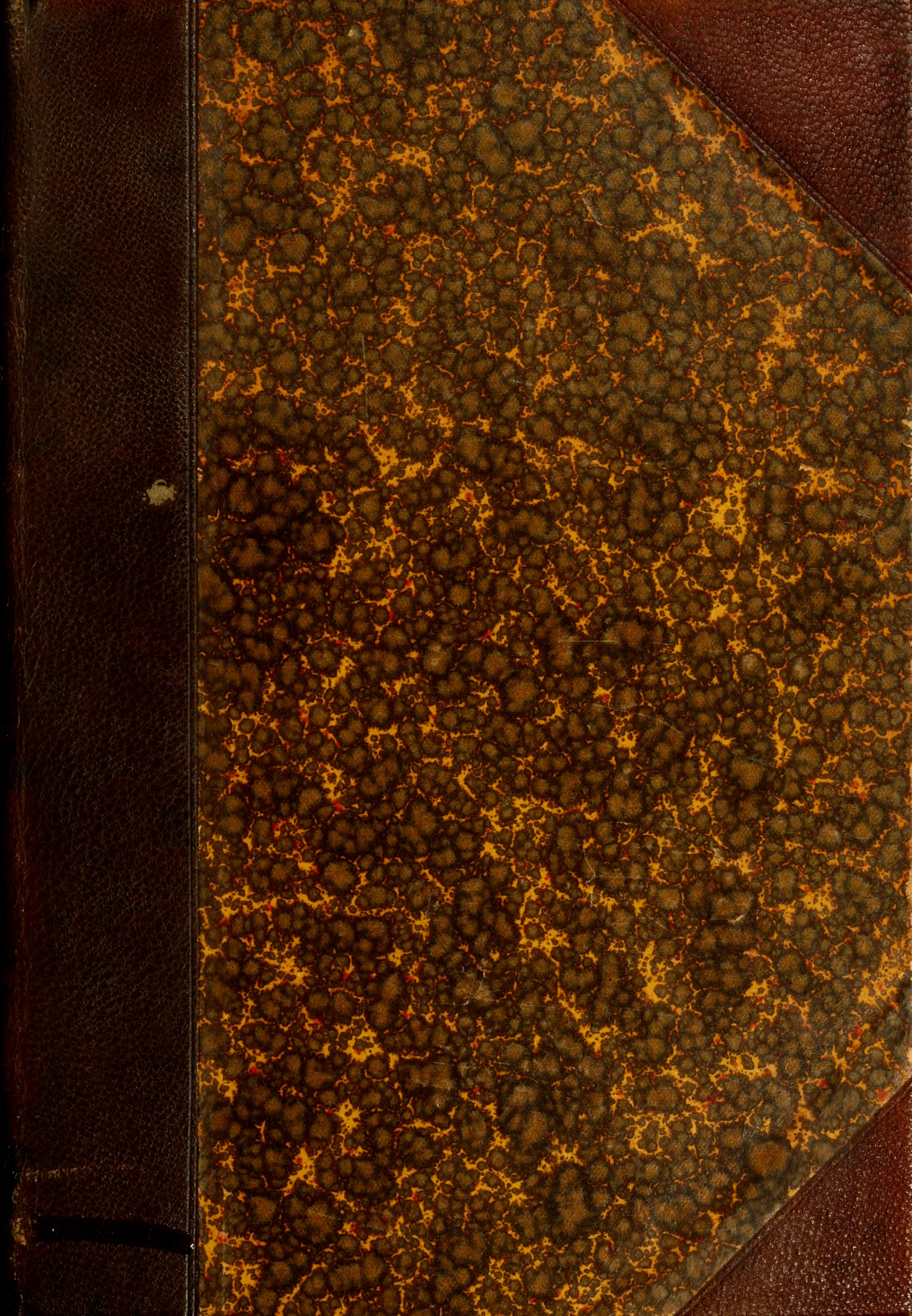
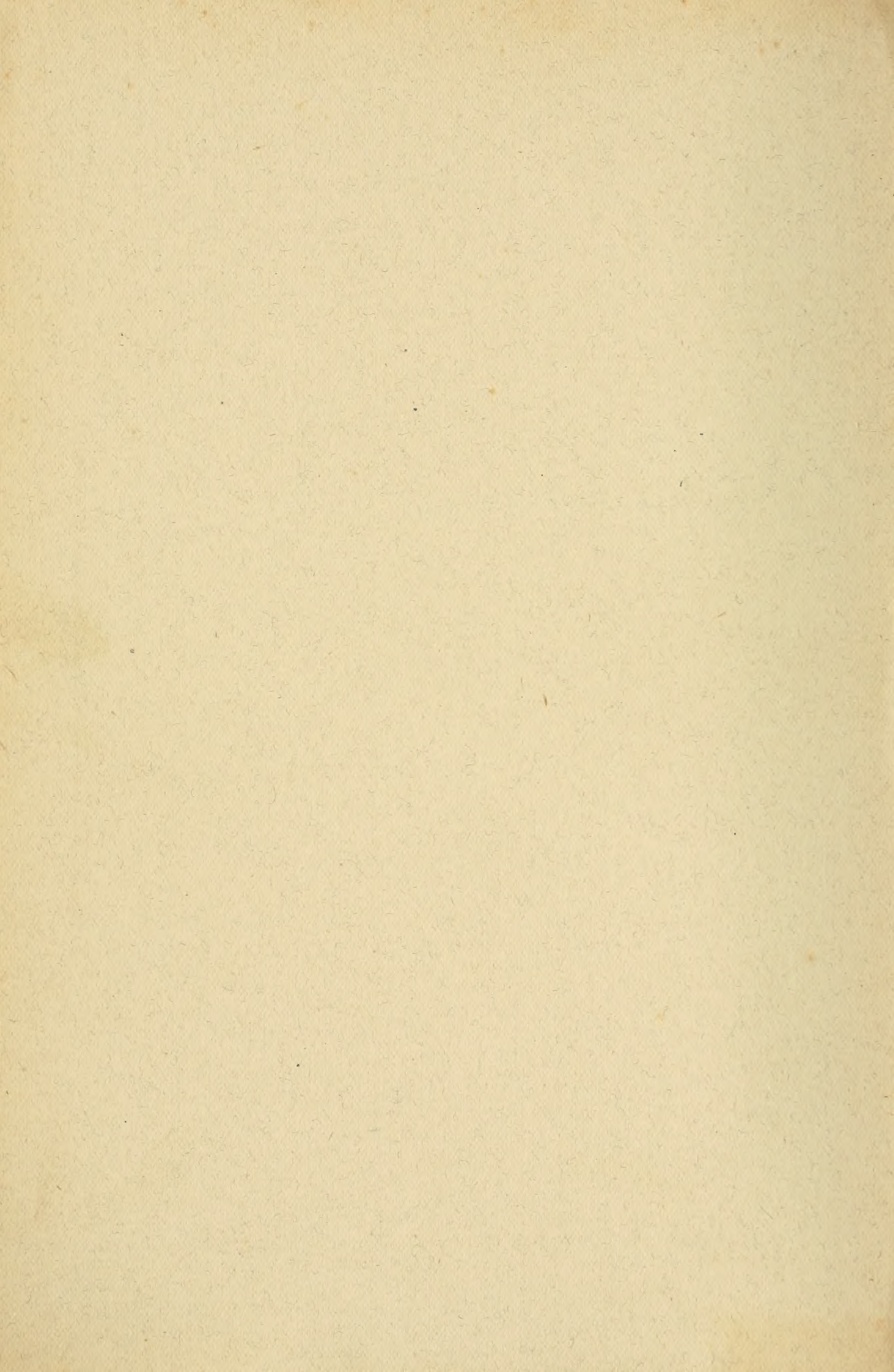
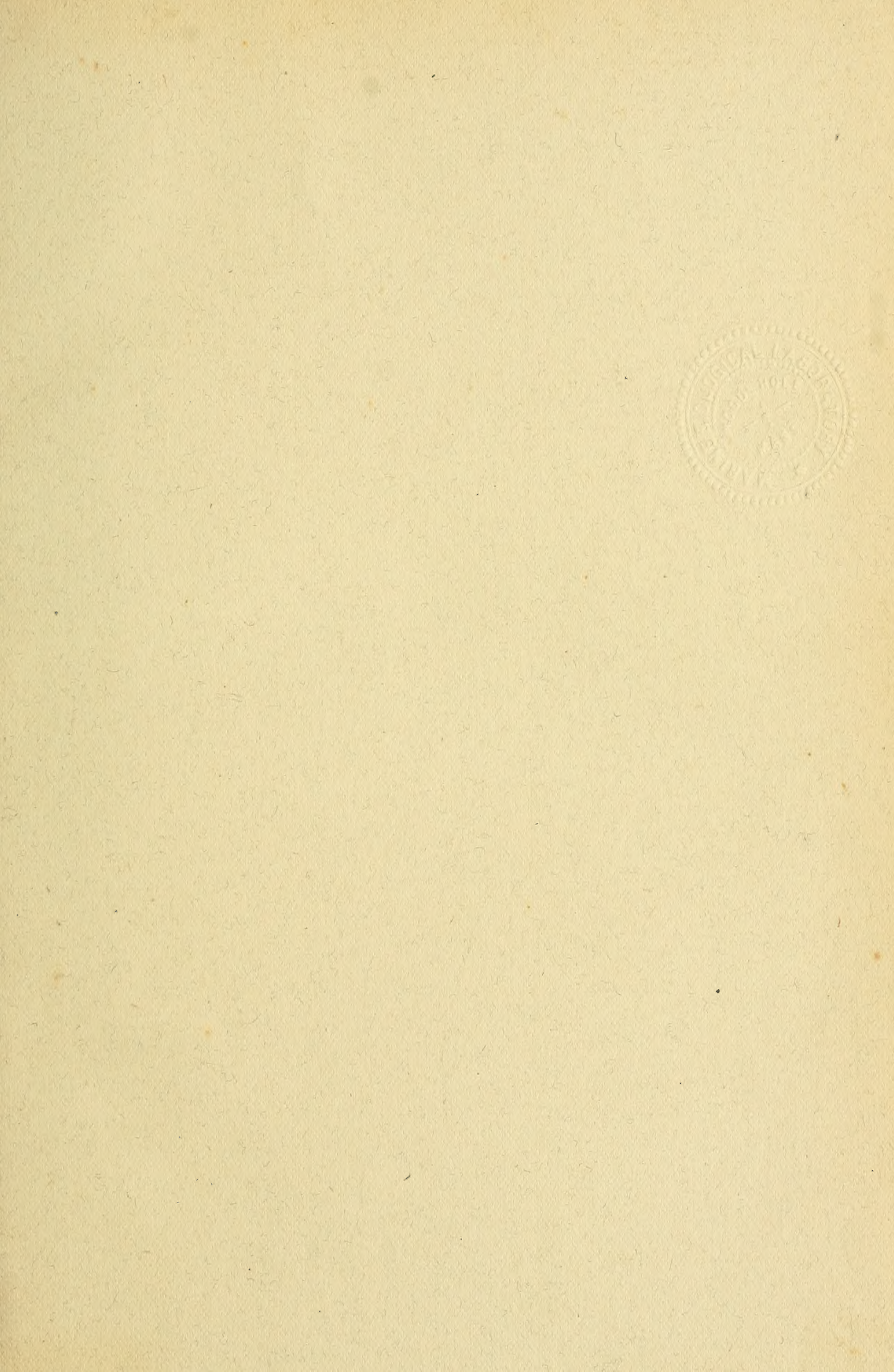
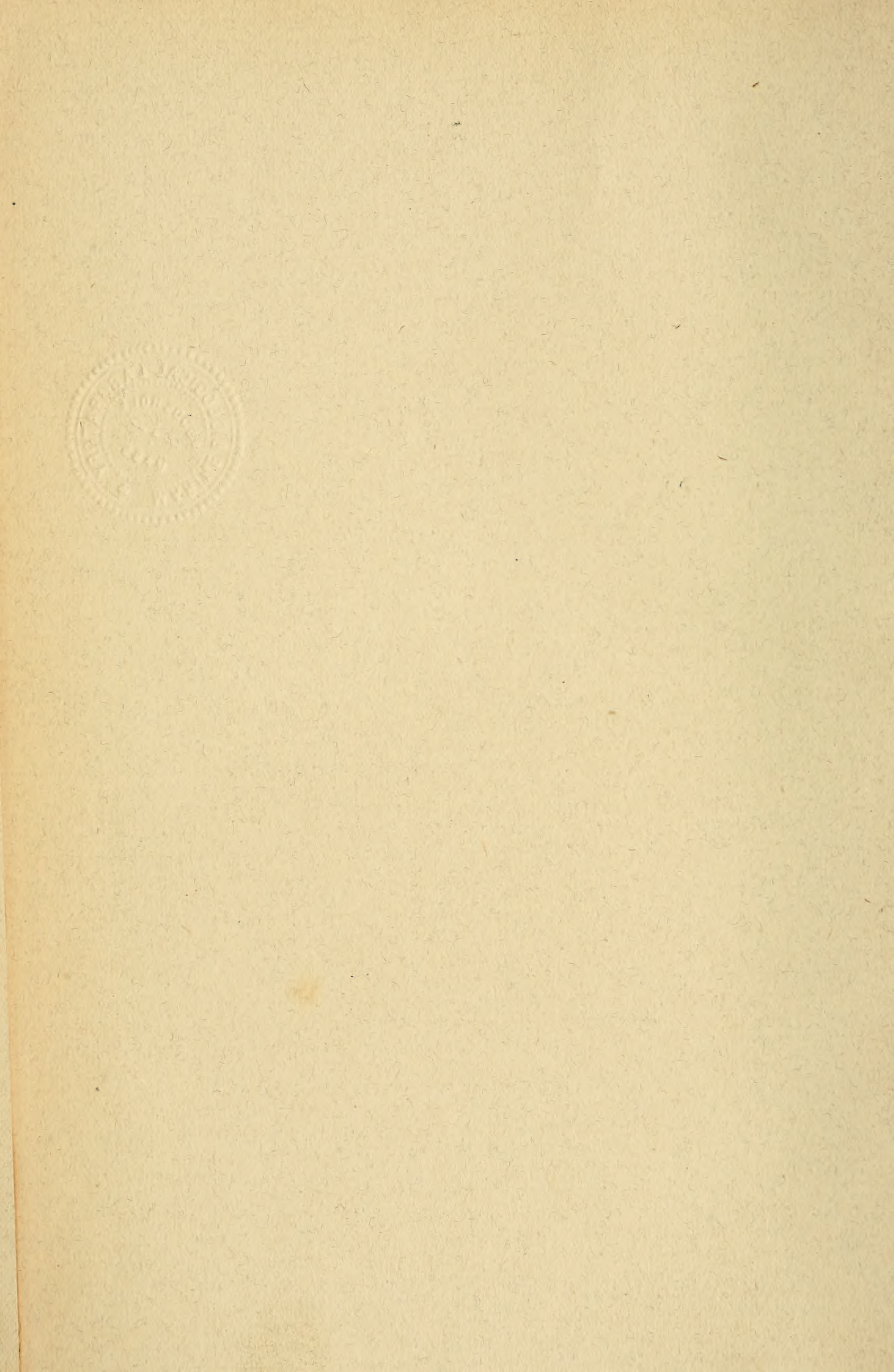
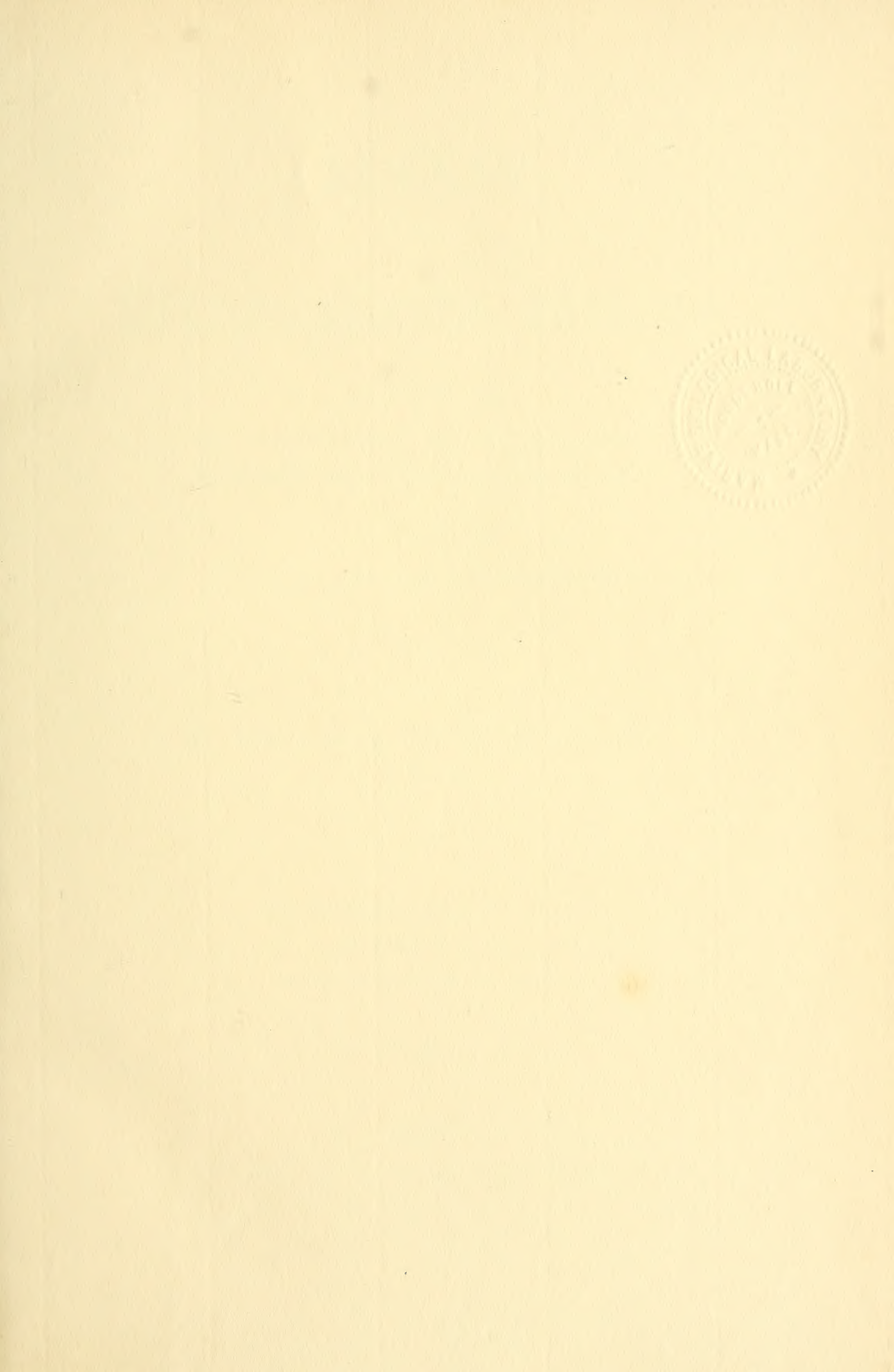
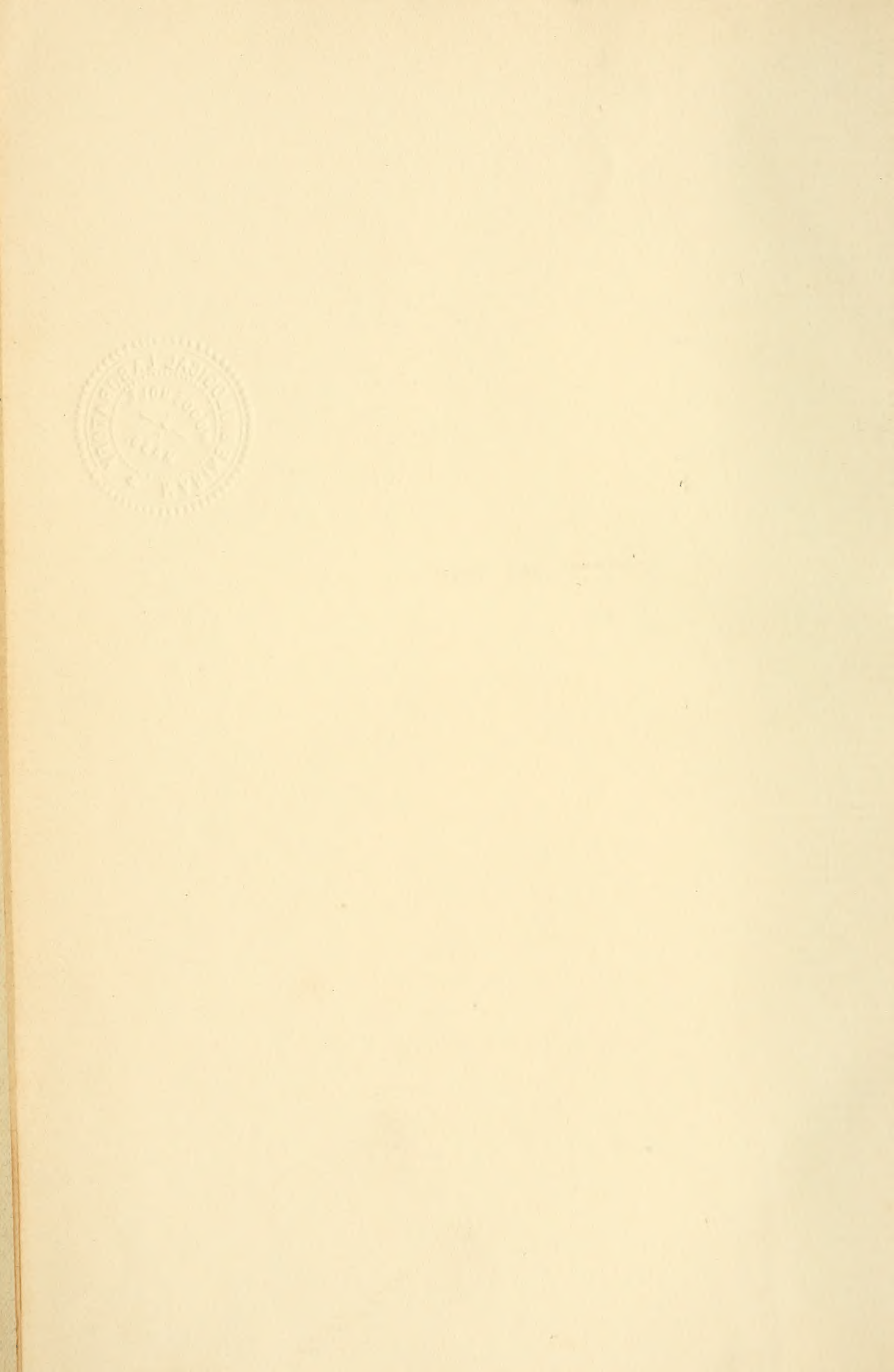












ARCHIV

für

Mikroskopische Anatomie

I. Abteilung

für vergleichende und experimentelle Histologie und Entwicklungsgeschichte

II. Abteilung

für Zeugungs- und Vererbungslehre

herausgegeben

von

O. Hertwig und **W. Waldeyer**
in Berlin

Zweiundachtzigster Band
II. Abteilung
Mit 15 Tafeln und 35 Textfiguren

BONN
Verlag von Friedrich Cohen
1913

Inhalt.

Abteilung II.

Aus dem Biologischen Institut der Universität Berlin.

Versuche an Tritoneiern über die Einwirkung bestrahlter Samenfäden auf die tierische Entwicklung.

Zweiter Beitrag zur experimentellen Zeugungs- und Vererbungslehre.

Von

Oscar Hertwig.

Hierzu Tafel I—III und 4 Textfiguren.

Inhalt:

Einleitung.

In mehrjährigen Studien ist ein neues Forschungsgebiet durch die Radiumbestrahlung männlicher und weiblicher Keimzellen vor der Befruchtung und durch die Untersuchung der hierdurch im Entwicklungsprozess hervorgerufenen Veränderungen eröffnet worden. Es schien mir wünschenswert, die überraschenden Resultate, welche bisher nur an den Eiern vom Frosch und von Seeigeln gewonnen worden waren, durch neue Experimente an anderen Tierarten noch weiter zu ergänzen, sicher zu stellen und dabei zugleich in dieser und jener Richtung noch neue Einblicke zu gewinnen.

So veranlasste ich zwei Herren, in meinem Laboratorium die Wirkungen zu untersuchen, welche die verschieden starke Bestrahlung der Samenfäden mit Mesothoriumpräparaten auf die Entwicklung der Eier von Teleostiern ausübt. — Mein Sohn Günther wandte sich dem Studium der Bastardbefruchtung zu, in der Absicht, die Einwirkung intensiv bestrahlter Samenfäden auf die Befruchtung und Entwicklung artfremder Eier zu untersuchen. Er wählte hierzu in einer Versuchsreihe die Bastardierung des Eies von Bufo vulgaris mit bestrahltem Samen von Rana

fusca und in einem zweiten Versuch die Bastardierung des Eies von Rana viridis mit Rana fusca-Samen. Die interessanten, von ihm im voraus erwarteten Ergebnisse, welche für die Richtigkeit der Idioplasmakerntheorie eine wichtige Stütze liefern, sind soeben in diesem Archiv (Bd. 81, Abt. II) mit den Belegfiguren veröffentlicht worden.

Ich selbst habe das Tritonei für Bestrahlungsversuche gewählt, einmal um eine Parallelreihe aus der Gruppe der geschwänzten Amphibien zu der Versuchsreihe über Anurenentwicklung zu erhalten, dann aber auch noch ganz besonders durch den Gesichtspunkt bestimmt, dass die Zellkerne bei Triton durch ihre stattliche Grösse und gute Färbbarkeit sich zu genaueren mikroskopischen Untersuchungen besser eignen als die kleinen und schlecht färbbaren Froschkerne. Zur Stütze und Erweiterung der von Günther Hertwig erhaltenen Ergebnisse nahm ich auch eine Bastardierung der Tritoneier mit bestrahltem Samen von Salamandra maculata vor. Das in beiden Versuchsreihen erhaltene Material ist im letzten Sommer auch an Schnittserien durchgearbeitet worden; seine Veröffentlichung schliesst sich jetzt als Fortsetzung an die Untersuchungen an, welche vor einem Jahre unter dem Titel: „Die Radiumkrankheit tierischer Keimzellen" im Band 77 dieses Archivs erschienen sind. Die neue Abhandlung zerfällt in vier Teile: der eine handelt über die Entwicklung des Tritoneies nach Befruchtung mit bestrahltem Tritonsamen, der zweite über die Ergebnisse der Bastardbefruchtung mit intensiv bestrahlten Samenfäden von Salamandra maculata, der dritte Teil bringt eine mikroskopische Analyse der auf parthenogenetischem Wege entwickelten Tritonlarven, im vierten Teil endlich folgt eine Zusammenfassung und Besprechung der wichtigsten Versuchsergebnisse.

Ehe ich zur Besprechung der Versuchsergebnisse übergehe, ist es mir eine angenehme Pflicht, den Herren, die mir durch Überlassung verschiedener wertvoller Präparate von Radiumbromid und von Mesothorium die Ausführung der oben erwähnten Arbeiten im Anatomisch-biologischen Institut ermöglicht haben, der Preussischen Akademie der Wissenschaft, der Direktion der Auer-Gesellschaft, in erster Reihe Herrn Geheimrat Koppel und dem Direktor des Physikalischen Instituts, Herrn Rubens, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

I. Teil.

Die Bestrahlung der Samenfäden von Triton mit Radium oder Mesothorium und Benutzung derselben zur künstlichen Befruchtung normaler Triton-Eier. B-Serie.

Die Versuche wurden Anfang Mai angestellt. Der Samen wurde den prall gefüllten Samenleitern mit einer Glaskapillare entnommen und mit einer Spur 0,3 proz. Kochsalzlösung zur Verhütung des Eintrocknens verdünnt; ein kleiner Tropfen davon wurde sofort auf einen hohlgeschliffenen Objektträger gebracht und in der Weise, die in meiner ersten Abhandlung genauer beschrieben worden ist, durch Auflegung einer Radiumkapsel bestrahlt. Gleichzeitig wurde zur Kontrolle ein zweiter Tropfen derselben Samenflüssigkeit auf einen anderen Objektträger übertragen, ohne bestrahlt zu werden. Beide Präparate wurden, um das Eintrocknen zu verhindern, in der feuchten Kammer aufbewahrt.

Zur Ausführung der künstlichen Befruchtung musste bei jedem Versuch eine grössere Anzahl frisch eingefangener Weibchen getötet werden, um das für ihn erforderliche Eimaterial (40 bis 60 Stück) zu gewinnen. Nach dem von mir zuerst angewandten, 1883 beschriebenen Verfahren wurden die Eier aus den Oviducten durch vorsichtiges Zerschneiden derselben mit scharfer Schere in querer Richtung auf kleinen Uhrschälchen ohne jede Zusatzflüssigkeit isoliert, nur durch öfteres Anhauchen vor Eintrocknung geschützt und dann befruchtet, wobei zuerst das Radiumexperiment und nach ihm die Kontrolle vorgenommen wurde. Wie sich von selbst versteht, wurden hierbei alle Vorsichtsmassregeln ergriffen, damit keine Verunreinigung mit Samenfäden des anderen Versuchs bei der Befruchtung erfolgen konnte. Zur Vornahme der Befruchtung wurde der in der feuchten Kammer aufbewahrte Samentropfen noch durch einen zweiten, aber auch nur geringen Zusatz von 0,3 proz. Kochsalzlösung ein wenig weiter verdünnt und von dieser Mischung ein kleines Tröpfchen mit einer feinen Glaskapillare auf jedes Ei gebracht. Wenn der Samen für alle Eier nicht reichte, wurde von den zuerst befeuchteten Eiern die Flüssigkeit nach kurzer Zeit mit dem Kapillarröhrchen wieder abgesaugt und zur Besamung weiterer Exemplare verwandt. Nach 10—15 Minuten wurden alle besamten Eier mit gewöhnlichem Wasser übergossen.

Nach dieser Methode wurden vier Versuchsreihen ausgeführt, in denen der Samen verschieden lange Zeit und mit ungleich starken Präparaten bestrahlt worden war. In einem Versuch dauerte die Bestrahlung des Samens mit einer Kapsel von 5,3 mg reinem Radiumbromid fünf Minuten, in einem zweiten Versuch wurde sie unter sonst gleichen Bedingungen auf 15 Minuten ausgedehnt. Im dritten und vierten Experiment wurde beabsichtigt, die Samenfäden so stark und so lang als möglich, das heisst bis zu der Grenze zu bestrahlen, wo sie noch genügend beweglich geblieben sind, um durch die Gallerte und in das Ei zu dringen; zu dem Zweck wurde in derselben Weise, welche in der ersten Abhandlung beschrieben worden ist, verfahren. Anstatt auf einen hohlen Objektträger wurde der Samentropfen auf ein sehr dünnes Glimmerplättchen gebracht und zwischen zwei Kapseln von unten und oben bestrahlt. Die eine Kapsel war mit Mesothorium in der Stärke von 51 Milligramm reinem Radiumbromid, die zweite mit Mesothorium (gleich 20 Milligramm Radiumbromid) gefüllt. Im dritten Versuch wurde der Samen auf diese Weise drei Stunden lang bestrahlt. Bei mikroskopischer Untersuchung einer kleinen Stichprobe, die in einem Tropfen 0,3 proz. Kochsalzlösung auf den Objektträger gebracht wurde, zeigte ein Teil der Samenfäden schon eine Abnahme in der Bewegung des undulierenden Flossensaums. Als daher mit dem drei Stunden bestrahlten Samen die Eier nach dem oben erwähnten Verfahren besamt wurden, trat Zweiteilung und weitere Entwicklung nur bei einem kleinen Teil von ihnen ein. Daher wurde im vierten Versuch die intensive Bestrahlung unter denselben Verhältnissen schon nach zwei Stunden unterbrochen. Jetzt zeigten die Samenfäden bei mikroskopischer Untersuchung noch gute Beweglichkeit, und die mit ihnen vorgenommene Besamung lieferte ein sehr günstiges Ergebnis.

a) Erste Versuchsreihe. Bestrahlung der Samenfäden während fünf Minuten mit 5,3 mg reinem Radiumbromid.

Mit dem fünf Minuten bestrahlten Samen wurde eine Partie Eier am 5. Mai 11 Uhr früh befruchtet. In der Zeit von 6 bis 7 Uhr abends waren 17 Stück von ihnen in normaler Weise zweigeteilt. Sie wurden von den übrigen getrennt und in einer besonderen Schale weitergezüchtet. Normale Vierteilung begann

von 7 Uhr an aufzutreten. Die Kontrolleier, die um 1 Uhr 20 Minuten desselben Tages befruchtet wurden, waren um 8 Uhr Abends mit wenigen Ausnahmen zweigeteilt. Dass die künstliche Befruchtung bei einer bald grösseren, bald kleineren Zahl von Tritoneiern nicht gelingt, ist bei der angegebenen Methode wohl nie ganz zu vermeiden. In dieser Beziehung ist bei Rana fusca und R. viridis das Prozentverhältnis ein besseres.

Schon auf dem Stadium der Zweiteilung lässt sich bei den Radiumeiern eine geringe Verzögerung im Vergleich zu den Kontrollen wahrnehmen. Dieselbe führt von Tag zu Tag zu immer grösser werdenden Differenzen. Schon am 8. Mai ist der Unterschied in der Entwicklung ein sehr auffälliger. Die mit Radiumsamen befruchteten Eier befinden sich noch auf dem Stadium der Gastrulation; zum grossen Teil lassen sie bei Untersuchung mit der Lupe eine kleine hufeisenförmige Einstülpung als Urmundöffnung erkennen. Die Kontrollen dagegen, bei denen die Gastrulation schon am vorausgegangenen Tag zum vollen Abschluss gekommen war, zeigen bereits das Stadium der deutlich entwickelten Medullarplatte, mit vorspringenden Wülsten, wie es in meiner Arbeit über die Entwicklung des mittleren Keimblatts der Tritonen[1]) (Taf. I, Fig. 8 und 9) abgebildet ist.

Von dem entwickelten Ausgangsmaterial (17 Stück) wurden jetzt die 13 besten Eier zur Weiterzucht ausgelesen, der Rest, der zum Teil noch gar nicht den Beginn einer Gastrulation erkennen liess, in Chrom-Sublimat-Essigsäure eingelegt.

Die später vorgenommene Schnittuntersuchung lehrte auf das deutlichste, dass die starke Verzögerung in der Entwicklung in einer Schädigung des Zellmaterials ihre ursächliche Erklärung findet. Die Schädigung tritt auf dem in Fig. 1 (Taf. II) abgebildeten Durchschnitt durch ein Ei, welches auch am dritten Tag noch auf dem Keimblasenstadium steht, in verschiedenen Merkmalen hervor. Von den zahlreichen, kleinen Embryonalzellen haben viele die Neigung, eine reine Kugelform anzunehmen, wie es nach der Entdeckung von Herbst die Furchungszellen von Seeigeleiern tun, wenn sie während eines Furchungsstadiums auf kurze Zeit in kalkfreies Meerwasser gebracht werden. Infolgedessen ist namentlich nach der Keimblasenhöhle ihr normaler

[1]) Oscar Hertwig, Die Entwicklung des mittleren Keimblatts der Wirbeltiere. Jena, G. Fischer, 1883.

Zusammenhang, der bei gesunden Eiern besteht, in dem Maße gelockert, dass sie sich aus dem Verband mit den übrigen ganz abtrennen und frei in die Keimblasenhöhle zu liegen kommen. Eine solche Ablösung ist in unserem Durchschnitt in der gesamten Innenfläche eingetreten. Grössere und kleinere Zellkugeln, von denen einzelne auch Zerfallserscheinungen darbieten, finden sich infolgedessen in der Binnenhöhle zerstreut. Auch ihre Kerne sind pathologisch verändert; sie sind aus der Mitte der Zelle meist an ihre Oberfläche gewandert, sind zu grösseren Bläschen ausgedehnt, in denen häufig ein sehr grosser, stark sich färbender, kugeliger Nucleolus wahrgenommen wird. Dieser wird zuweilen auch ganz frei zwischen den Zellen vorgefunden, sei es, dass er beim Schnitt künstlich aus der Zelle herausgerissen wurde, sei es, dass er durch Zerfall des Kernbläschens und der Zelle frei geworden ist, was mir mehrfach der Fall zu sein schien. Dass derartig veränderte Eier sich nicht mehr viel weiter entwickeln können und bald zugrunde gehen müssen, wird niemand überraschen und ist auch durch die weitere Beobachtung bestätigt worden. Von den 13 Eiern, welche bei der am 8. Mai vorgenommenen Auswahl noch das normale Aussehen darboten, war am 9. Mai noch ein Ei weiss geworden, also abgestorben, so dass es entfernt werden musste. Der Abstand gegen die Kontrolleier hat sich jetzt noch mehr vergrössert. Diese zeigen einen Befund, wie er in meiner älteren Tritonarbeit (loco citato) auf Taf. I, Fig. 10—12 dargestellt ist. Das Nervenrohr ist geschlossen und am Kopfende im Begriff, sich in drei Hirnblasen zu sondern. Da schon eine nicht unerhebliche Streckung des Eies in der späteren Längsachse stattgefunden hat, beginnen sich die Embryonen in der Gallerthülle mit ihrem Kopf- und Schwanzende zu einem Halbring zusammenzukrümmen. Die Krümmung gleicht sich nach Isolation aus der Gallerte wieder aus. Ein derartig gestreckter, 4 Tage alter Kontrollembryo ist auf Taf. I dieser Abhandlung in Fig. 3 nach einer photographischen Aufnahme abgebildet.

Dagegen befinden sich die Versuchseier teils noch in Gastrulation, teils lassen sie erst eine noch wenig ausgeprägte oder richtiger, eine geradezu kümmerliche Anlage der Medullarplatte erkennen. Schon an den lebenden Objekten liess sich dies bei Lupenvergrösserung feststellen, wie in dem über sie geführten Protokoll bemerkt wurde. Eine sichere Bestätigung dieser Angabe

lieferten aber zwei Eier, die am 9. Mai in Zenkerscher Flüssigkeit konserviert wurden. Nachdem sie vermittelst Eau de Javelle aus ihren Hüllen befreit worden waren, ergaben sie den in den Fig. 1 und 2 auf Taf. I abgebildeten Befund. Fig. 2 zeigt noch einen grossen freiliegenden Dotterpfropf, umgeben von abnorm verlaufenden Urmundlippen. Das andere Ei in Fig. 1 ist etwas weiter entwickelt. Es lässt nach beendeter Gastrulation eine nur wenig ausgeprägte Anlage der Medullarplatte unterscheiden, an welcher sich der vordere quere Hirnwulst allein deutlicher markiert. In einiger Entfernung von ihm ist eine kleine, unregelmässige Einbuchtung in der Wand der Eiblase zu bemerken. Sie stellt einen abnormen Befund dar, der in irgend einer Weise mit dem verzögerten Verlauf der Entwicklung und mit der Ausbildung einer dünneren Stelle in der Blasenwand zusammenhängt. Häufig wurden auch kleine Mengen ausgestossener Dottersubstanz im perivitellinen Raum (z. B. in Fig. 2, dr) beobachtet, wie solche bei Radiumeiern des Frosches regelmässig und in grösserer Masse gefunden werden und von mir schon früher beschrieben worden sind (1911, l. c., S. 31 und 32).

Am folgenden Tag (10. Mai) sind in der Kontrolle die Embryonen (Taf. I, Fig. 5) erheblich weiter gestreckt und zusammengekrümmt. Das Kopfende setzt sich schärfer ab und gliedert sich, indem zum Beispiel die Augenblasen schon ausgestülpt und an der Oberfläche als kugelige Vorwölbungen zu erkennen sind. Auch die Mesodermsegmente können bei der Untersuchung mit der Lupe bereits gut wahrgenommen werden. Dagegen sind die zehn Versuchsobjekte noch runde Blasen, auf deren Oberfläche das Zentralnervensystem in mehr oder minder verkümmerter Weise angelegt ist. Am deutlichsten ist noch die Hirnplatte mit deutlich vortretenden Wülsten markiert (Taf. I, Fig. 4), setzt sich aber nach hinten in einen schmäleren Zellstreifen fort, an dessen Seiten die Begrenzung von Rückenwülsten vermisst wird, und der nur durch seine trübere Beschaffenheit sich von der übrigen mehr durchscheinenden Blasenwand abhebt. Bei normaler Entwicklung wird ein derartiger Befund niemals beobachtet. Auch hat sich schon jetzt im Inneren der Keimblase Flüssigkeit in aussergewöhnlicher Weise angesammelt, wie ein Vergleich des Durchmessers von Fig. 4 mit den um einen Tag jüngeren Eiern der Fig. 1 und 2 sofort lehrt. Mit Recht kann

man daher schon jetzt von einer sehr früh aufgetretenen Wassersucht der Eiblase sprechen.

Eine Querschnittserie durch das in Fig. 4 abgebildete Ei trägt noch Einiges zur Ergänzung dieses Befundes bei. Sie zeigt in der Tat den inneren Hohlraum weit über das Normale ausgedehnt (Taf. II, Fig. 14). Infolgedessen ist die dorsale Wand stark verdünnt und aus sehr abgeplatteten Zellen zusammengesetzt. Infolge einer nicht günstigen Orientierung des Objektes beim Einbetten in Paraffin wurde der kleine Bezirk, der bei Flächenbetrachtung als verkümmertes vorderes Ende der Medullarplatte gedeutet wurde, nur in Flachschnitten getroffen, so dass er keine zur Wiedergabe geeigneten Bilder lieferte. Auch in diesem Ei haben wieder viele in der Umgebung des inneren Hohlraumes gelegene Zellen (z) Kugelform angenommen, sich von den übrigen abgelöst und liegen teils als grössere Haufen, teils vereinzelt auf dem Boden der noch in festerem Zusammenhang gebliebenen, vegetativen Dotterzellen.

Da am 10. Mai fünf Eier konserviert wurden, blieben nur fünf zur Weiterzucht übrig. Diese begannen sich am 11. Mai auch etwas zu strecken. Das Zentralnervensystem ist, wie Fig. 6 (Taf. I) lehrt, in der Rückengegend als ein kümmerlicher Zellenstrang angelegt, der nur wenig an der Oberfläche hervortritt und vorn eine feine Rinne erkennen lässt. An seinem vorderen und hinteren Ende sind Kopf- und Schwanzhöcker auch kaum angedeutet. Auf diesem Stadium werden drei Eier eingelegt, so dass jetzt vom Versuch nur noch zwei überleben. Eine Schnittserie durch den in Fig. 6 abgebildeten Embryo bestätigt die schon bei der Oberflächenuntersuchung gemachte Wahrnehmung, dass die weitere Entwicklung nur zu stark verkümmerten Organanlagen geführt hat. Bei einer 100fachen Vergrösserung ist ein Querschnitt durch das vordere Ende der Anlage des Zentralnervensystems (Fig. 8, Taf. II) und ein zweiter Schnitt durch die Mitte desselben (Fig. 9) abgebildet. In beiden ist am deutlichsten die Chorda dorsalis (ch) als ein runder, gut abgegrenzter Zellstrang wahrzunehmen. Die über ihm gelegene Medullarplatte (mp) hängt noch mit dem Hornblatt zusammen, ist in hohem Maße verkümmert und nur aus wenigen kleinen Zellen zusammengesetzt. In Fig. 9 zeigt sie eine unregelmässige Rinne mit einer linkerseits vorspringenden Falte. Das Hornblatt besteht aus einer

einzigen Lage stark abgeplatteter Zellen. In demselben Maße wie die Nervenplatte, ist auch das ganze mittlere Keimblatt (mk) verkümmert; denn es besteht zum Teil nur aus einer dünnen Zellanlage, zum Teil aus kleinen abgetrennten Zellenhaufen zu beiden Seiten der Chorda. In der Darmhöhle sind auch wieder einige wenige kugelige, isolierte Zellen und Haufen von Dotterplättchen, die wohl von zerfallenen Zellen herrühren, zu beobachten.

Wenn also in diesem Fall auch die Entwicklung noch über das Keimblasen- und Gastrulastadium, allerdings in sehr stark verlangsamter Weise, ihren Fortgang genommen hat, trägt sie doch einen so stark pathologischen Charakter und hat zu so kümmerlichen und rudimentären Organanlagen geführt, dass der ganze Befund auf einen bald eintretenden vollständigen Stillstand und einen sich anschliessenden Zerfall hindeutet.

Wie gross jetzt der Kontrast zu den gleichalterigen Kontrollembryonen geworden ist, zeigt Fig. 7 (Taf. I). Der normale Embryo ist stark in die Länge gewachsen, sehr deutlich segmentiert. Das Schwanzende tritt schärfer hervor. Am Kopf hat die feinere Gliederung Fortschritte gemacht. Die Augenblasen sind zum Becher umgewandelt; die Kieferbogen werden sichtbar.

Am 12. Mai sind die in den Eihüllen zusammengerollten Kontrollembryonen, wenn sie frei präpariert und gestreckt sind, mehr als doppelt so lang im Vergleich zu den mit bestrahlten Spermien befruchteten Eiern. Sie beginnen schon, da sich in den Mesodermsegmenten Muskelfasern gebildet haben, Bewegungen auszuführen. Einer von ihnen ist in Fig. 10 (Taf. I) auf photographischem Wege aufgenommen; doch ist er ebenso wie die in den Fig. 8 und 9 abgebildeten Embryonen nur 8 mal vergrössert, während die Vergrösserung der vorher beschriebenen jüngeren Stadien das 12 fache beträgt. Die Versuchseier sind noch immer wenig gestreckt von ovaler Form mit vortretendem Kopf- und Schwanzhöcker.

Ein Embryo wurde eingelegt, zeigte aber später bei mikroskopischer Untersuchung, dass er schon vor dem Einlegen abgestorben und in Zerfall begriffen war.

Am 14. Mai haben die Embryonen ein Alter von 9 Tagen erreicht. Im Radiumversuch ist der einzige, jetzt noch überlebende Embryo zwar sehr klein, aber besser gegliedert (Taf. I, Fig. 8). Er befindet sich jetzt etwa auf dem Stadium, welches die Kontrollen schon am 5. Tag (Taf. I, Fig. 5) erreicht hatten.

Der Kopfhöcker ist besser abgesetzt und lässt zum erstenmal eine Gliederung erkennen. Auch der Schwanz tritt als Höcker über die Oberfläche weiter hervor. Der Dottersack ist ventralwärts infolge beginnender Wassersucht blasenartig vorgetrieben und grösser als es bei normaler Entwicklung der Fall ist. Infolgedessen haben sich Kopf- und Schwanzende nicht ventralwärts einander nähern und zu einem Halbring zusammenkrümmen können, wie bei normaler Entwicklung (Taf. I, Fig. 5). Die mehr als doppelt so langen Kontrollarven sind viel schlanker und gut beweglich (Taf. I, Fig. 9). Am Kopf sind die Kiemenhöcker hervorgesprosst. Der Rücken und das schon ansehnlich gewordene Schwanzende beginnen sich mit einer durchsichtigen Hautfalte, einem Flossensaum, zu umgeben.

Der Versuch a wird auf diesem Stadium abgeschlossen und der letzte Embryo (Fig. 8) zum Zweck mikroskopischer Untersuchung in Chrom-Sublimat-Essigsäure eingelegt.

b) Zweite Versuchsreihe. Bestrahlung der Samenfäden während 15 Minuten mit 5,3 mg reinem Radiumbromid.

Auch der zweite Versuch wurde am 5. Mai ausgeführt. Mit den Samenfäden, die sich nach der viertelstündigen Bestrahlung noch kräftig bewegten, wurde die Besamung der Eier um 12 Uhr 30 Minuten vorgenommen. Die Zweiteilung begann von 6 Uhr 30 Minuten an nach und nach einzutreten. Das Prozentverhältnis gestaltete sich in diesem Versuch sehr günstig, da 45 Eier sich in normaler Weise teilten. Der Furchungsprozess nahm zunächst seinen normalen Verlauf. Aber schon nach 2 Tagen (am 7. Mai) sahen die Eier nicht gut entwickelt aus. Ihre Oberfläche gewann eine feinhöckerige Beschaffenheit, was darauf zurückzuführen ist, dass die Embryonalzellen sich abrunden und ihren festen Zusammenhang untereinander verlieren. Es wird daher ein Teil des Materials teils mit der Gallerthülle, teils nach Entfernung derselben eingelegt. Die Gastrulation hat noch nicht begonnen; dagegen lassen die Kontrolleier — zur Kontrolle diente dasselbe Material wie bei der ersten $1^1/_2$ Stunden früher begonnenen Versuchsreihe — schon einen runden Blastoporus mit kleinem Dotterpfropf erkennen.

Die mikroskopische Untersuchung der konservierten Eier auf Schnittserien bestätigte die schon bei der Betrachtung des

lebenden Materials gewonnene Auffassung. Zur Bildung einer ganz normal aussehenden Keimblase ist es gewöhnlich nicht mehr gekommen. Zwar sind durch den Furchungsprozess viele Hunderte von kleinen Zellen entstanden. Aber es fehlt der normale, feste Zusammenhalt zwischen ihnen, wenn nicht überall, so doch an vielen Stellen. Die in hohem Maße geschädigten Zellen haben noch mehr als in der ersten Versuchsreihe die Neigung, Kugelform anzunehmen. In schöner Weise ist dies in Fig. 3 (Taf. II) zu sehen. Die ganze Oberfläche zeigt nirgends eine Lage fest zu einem Epithel zusammengefügter Zellen, sondern sieht feinhöckerig aus, wie auf dem Stadium der groben Morula, obwohl dieses schon längst abgelaufen ist. Bei dem losen Zusammenhang fast aller Elemente haben sich viele Zellen von den übrigen ganz abgetrennt und liegen vereinzelt der Oberfläche frei auf oder haben sich in einem Hohlraum angesammelt, wie ein solcher unter der Dotterhaut an einer Stelle der Fig. 3 zu sehen ist.

In etwas modifizierter Weise ist der Auflösungsprozess in einem anderen Fall verlaufen, von welchem ein Durchschnittsbild in der Fig. 12 (Taf. II) wiedergegeben ist. An der Oberfläche des feinzelligen Haufens, der am oberen Rand auch eine kleine Einbuchtung erkennen lässt, ist zwar im allgemeinen eine festere Grenzschicht von Zellen mit pigmentierter Oberfläche vorhanden, aber diese weist hier und da, und zwar in unserer Figur an zwei Stellen, x^1 und x^2, kleine Unterbrechungen auf, an welchen der Zusammenhang gelockert ist. Hier nimmt man vereinzelte kugelige Zellen wahr, die sich von den übrigen abgetrennt haben und in dem perivitellinen Spaltraum unter die Dotterhaut geraten sind. Von derartigen Stellen stammen offenbar die grösseren und kleineren Zellkugeln (z) ab, die sich fast überall auf der Oberfläche, auch dort, wo noch eine festere Begrenzungsschicht vorhanden ist, verbreitet finden. Ausser ihnen ist aber der perivitelline Spalt noch von einem Detritus (d) feiner Körnchen und Dotterplättchen ausgefüllt. Diese sind ohne Frage auf einen nachträglichen weiteren Zerfall der abgelösten Zellkugeln zurückzuführen. Hierdurch findet auch die graue Verfärbung von der Oberfläche vieler Eier, die am zweiten Tage beobachtet und als eine Absterbungserscheinung gedeutet wurde, ihre Erklärung. Sie rührt von dem Zelldetritus her, der sich über grösseren Abschnitten der Oberfläche unter der Dotterhaut gebildet hat.

Eine Kombination von Entwicklungs- und Zerfallserscheinungen bietet uns ein Durchschnitt durch ein drittes Ei dar (Fig. 13, Taf. II). Hier hat sich in einem Bezirk in sehr unregelmässiger Weise eine Einstülpung gebildet. Zwei abnorm gestaltete Urmundlippen umfassen einen kleinen Hohlraum. Dagegen hat an der entgegengesetzten vegetativen Hälfte nicht nur eine Lockerung und Ablösung der Dotterzellen, sondern zugleich auch schon ein Zerfall derselben in einen körnigen Detritus begonnen; dieser hat sich bereits im perivitellinen Spaltraum unter der Dotterhaut über die noch besser erhaltene Hälfte des Eies herübergeschoben.

Aus den mitgeteilten Ergebnissen der Untersuchung des konservierten Materials auf Durchschnitten wird es jetzt leicht begreiflich sein, dass am folgenden Tag, dem dritten nach der Befruchtung, viele Versuchseier weiss geworden und abgestorben sind, obwohl sie sich bis zum Morulastadium anscheinend normal entwickelt hatten. Bei ihnen hat der Zerfall der Zellen, der schon am zweiten Tage begann, noch weitere Fortschritte gemacht. Der andere Teil der Eier, der offenbar durch das Experiment weniger geschädigt war, sah zwar noch lebend aus, war aber im Vergleich zum vorausgegangenen Tag in seiner Entwicklung nur wenig weiter fortgeschritten und hinter den Kontrollen, bei denen schon die Gastrulation beendet und die Medullarplatte angelegt war, weit zurückgeblieben. Der Rest des Versuchsmaterials wird daher nach Aussortierung der weiss gewordenen und abgestorbenen Eier in Chrom-Sublimat-Essigsäure für mikroskopische Untersuchung eingelegt. So hat in diesem Fall der Versuch b schon am 8. Mai, dem dritten Tag nach seinem Beginn, sein Ende gefunden. Die später vorgenommene mikroskopische Untersuchung aber lehrte, dass in manchen Fällen der Beginn der Gastrulation noch eingetreten war. Einen solchen Befund gibt der in Fig. 2 (Taf. II) abgebildete Querschnitt. Zwei relativ normal aussehende Urmundlippen haben sich entwickelt und umschliessen einen kleinen Urdarm, an dessen Boden das in die Tiefe gedrängte Dottermaterial liegt. Ein äusseres Keimblatt ist überall angelegt, auch stehen seine Elemente noch in festem Zusammenhang untereinander. Dagegen ist im Inneren des Eies noch eine geräumige Keimblasenhöhle vorhanden und mit zahlreichen grösseren und kleineren, kugelig gewordenen, vegetativen

Zellen erfüllt, die wieder ihren Zusammenhang untereinander verloren haben und auch pathologische Veränderungen ihrer Kerne aufweisen. Mit Recht lässt sich hieraus wohl schliessen, dass sogar bei derartigen besser entwickelten Eiern der Beginn des Zerfalls in der Abkugelung und Isolierung vieler vegetativer Zellen schon eingeleitet ist und dass er rasch fortgeschritten und zum Absterben geführt haben würde, wenn der Versuch nicht abgebrochen worden wäre.

c Dritte Versuchsreihe. Intensive, zwei- und dreistündige Bestrahlung der Samenfäden zwischen zwei Mesothoriumkapseln.

In dieser Weise wurde der Versuch zweimal ausgeführt, einmal am 16., das zweite Mal am 17. April; im ersten Fall mit dreistündiger, im zweiten Fall mit zweistündiger Bestrahlung. Die Bestrahlungsdauer wurde hier etwas abgekürzt, weil nach 3 Stunden schon die Bewegung der Samenfäden vielfach stark abgeschwächt und der Prozentsatz der mit ihnen befruchteten Eier daher nur ein kleiner war. Da in beiden Experimenten der Verlauf ein übereinstimmender war, will ich ihn nach den Protokollen gemeinsam besprechen.

In dem Versuch vom 16. April entwickelten sich aus dem schon hervorgehobenen Grund nur sechs Eier; fünf teilten sich in normaler, das sechste in pathologischer Weise. Im zweiten Versuch (am 17. April) dagegen waren von 32 Eiern 24 Stück durch die Besamung zur Entwicklung angeregt worden; von ihnen machten 22 nach 6—7 Stunden eine normale Zweiteilung durch. In beiden Fällen befanden sich die Eier am folgenden Tag auf dem Stadium der groben Morula. 24 Stunden später liess sich der Beginn der Gastrulation am Auftreten der hufeisenförmigen Urmundrinne (1883, l. c. Fig. 2), zugleich aber auch eine geringe Verspätung im Vergleich zum Kontrollmaterial beobachten. Denn bei diesem ist jetzt schon ein ringförmiger Blastoporus mit rundem, bald grösserem bald kleinerem Dotterpfropf (etwa wie in Fig. 3 l. c., 1883) zustande gekommen, ein Stadium, das bei den Versuchseiern erst am dritten Tag erreicht wird. Am vierten Tag haben die mit intensiv bestrahlten Samenfäden befruchteten Eier eine normale Medullarplatte mit vorspringenden Medullarwülsten gebildet; diese stehen entweder noch weiter auseinander, oder sie haben sich bei einem Teil des Versuchsmaterials schon mehr oder minder

zum Verschluss zusammengelegt, wie in den Fig. 7—9 meiner früher zitierten Arbeit (1883). In der Kontrolle dagegen ist zu dieser Zeit das Nervenrohr schon geschlossen und vorn im Begriff, sich in drei Hirnblasen zu sondern. Die Embryonen haben sich schon etwas gestreckt und über die Bauchfläche mit ihrem Kopf- und Schwanzende zu einem Halbring zusammengekrümmt (1883, l. c. Fig. 11 und 12, oder Fig. 3, Taf. I dieser Abhandlung).

Ein entsprechendes Aussehen bieten die Versuchseier erst einen Tag später dar. Mit einem Wort, es ist bei ihnen die Entwicklung bis zum fünften Tag ganz normal, nur infolge der etwas später und langsamer abgelaufenen Gastrulation ein wenig verzögert; sie nimmt also einen ausserordentlich viel besseren Verlauf als bei den Eiern, deren Samenfäden nur 5 Minuten und mit einem schwachen Präparat bestrahlt worden waren. Denn bei diesen war die Entwicklung, abgesehen von der Verzögerung, von vornherein auch eine pathologische; wurde doch zum Beispiel die Medullarplatte gleich von vornherein in einem ganz verkümmerten Zustand angelegt. In unserer dritten Versuchsreihe tritt daher auch kein Verlust durch Absterben einzelner Embryonen ein; alle beginnen sich in einer der Norm sich annähernden Weise Schritt für Schritt weiter zu entwickeln, sich mehr und mehr in die Länge zu strecken und ein Organ nach dem anderen anzulegen. Trotzdem sind sie weit entfernt, als normal bezeichnet werden zu können. Je älter sie werden, um so mehr tritt der pathologische Charakter der Radiumlarven zutage, wie schon allein die nähere Betrachtung und Vergleichung der lebenden Tiere lehrt.

Ich fahre in der Mitteilung der Protokolle weiter fort:

Am Ende der zweiten Woche sind im Versuch vom 17. April zwei und im Versuch vom 16. April ein Embryo wassersüchtig geworden, d. h. sie zeigen einen stark aufgetriebenen, blasenförmigen Bauch mit durchscheinender, weil stark verdünnter Rumpfwand. Sie werden daher aus den Hüllen, in welchen sie zu diesem Termin ebenso wie die Kontrollen noch eingeschlossen sind, herauspräpariert. Sie führen jetzt schon schwach zuckende Bewegungen aus, vermögen sich aber nicht gerade zu strecken, wie es die gleichalterigen Kontrolltiere nach ihrer Befreiung aus der Gallerte tun. Sie bleiben so zum Halbring zusammengekrümmt am Boden des Glasgefässes unbeweglich liegen und zucken nur bei

Berührung zusammen, während die Kontrolltiere schon Schwimmbewegungen ausführen. Auf Taf. I, Fig. 12 und 13 sind zwei dieser Radiumlarven nebst der dazu gehörigen Kontrolle (Fig. 11) abgebildet. Bei dieser ist der Kopf der breiteste Körperteil, er setzt sich in einen schmäleren Rumpf und einen längeren gestreckten Schwanz fort, der schon oben und unten von einem Flossensaum umhüllt ist. Die beiden Augäpfel, deren durchsichtige Hornhaut von einem dunklen Pigmentring umgeben ist, sind deutlich zu sehen; die Kiemen sind schon als längere Fäden entwickelt. Vor ihnen findet sich jederseits ein feiner, tentakelförmiger Anhang, der von dem hinteren Rand des Unterkiefers entspringt und ein für Tritonlarven charakteristisches Gebilde ist. Bei den zwei Radiumlarven dagegen (Fig. 12 und 13) sind Kopf und Rumpf nicht gegeneinander abgesetzt, weil dieser durch Wassersucht aufgetrieben und infolgedessen umgekehrt wie bei der Kontrolle breiter als der Kopf ist. Der Kopf ist überhaupt viel weniger gegliedert. Die Augen sind bei der äusserlichen Untersuchung nicht zu unterscheiden. Die Kiemenfäden sind bei dem einen Exemplar (Fig. 12) sehr kümmerlich, bei dem anderen (Fig. 13) noch gar nicht entwickelt. Dagegen sind die beiden oben erwähnten tentakelartigen Anhänge des Kopfes ebensogut wie bei der Kontrolle zu sehen.

Sehr frühzeitig während ihrer Entwicklung, bilden sich bei den Tritonen vier charakteristische Pigmentlinien in der Rücken- und Seitenfläche des Körpers aus und zwar bei den Radiumlarven und den dazugehörigen Kontrollen in gleichartiger Weise. Schon in den Fig. 11—13, noch deutlicher aber in den Fig. 17—19, 23—27, welche älteren Stadien entsprechen, sind sie wahrzunehmen. Zwei schwarze dorsale Pigmentstreifen beginnen am Kopf, oberhalb des Mundes und verlaufen parallel und in geringem Abstand voneinander etwas median von der Augengegend und dehnen sich über den Rücken bis zur Schwanzspitze aus; sie liegen links und rechts vom Flossensaum. Zwei weitere, weniger ausgeprägte Pigmentlinien nehmen hinter den Augen ihren Anfang und verlaufen oberhalb der Kiemenbüschel und der Extremitäten, wenn dieselben entwickelt sind, an der Seite des Rumpfes ebenfalls nach hinten. Ausserdem finden sich auch noch vereinzelte Pigmentzellen zerstreut in der Haut verteilt, so auch an den Kiemenbüscheln und den Extremitäten. Zuweilen sind

die Radiumlarven noch reichlicher und dunkler, als es der Norm entspricht, pigmentiert.

Der wichtigste Unterschied zwischen Radium- und Kontrolllarven besteht indessen, abgesehen von der Bauchwassersucht der ersteren, in sehr auffälligen Grössenverhältnissen. Die Eier, welche mit intensiv bestrahlten Spermatozoen besamt worden sind, liefern ohne Ausnahme viel kleinere Tiere als die normal befruchteten. Jene erreichen im Durchschnitt nur zwei Drittel der Länge wie diese. Schon bei den 2 Wochen alten Exemplaren, die in den Fig. 12 und 13 dargestellt sind, ist dies der Fall, wenn wir sie uns gestreckt denken und mit der daneben abgebildeten Kontrolle (Fig. 11) vergleichen. Und dasselbe wiederholt sich bei allen Tieren bis zum Ende der vierten Woche, wo die beiden Versuche beendet wurden. Man vergleiche Fig. 15 und 16 mit Fig. 14, Fig. 18 und 19 mit Fig. 17, Fig. 21 und 22 mit Fig. 20, Fig. 24 und 25 mit Fig. 23, endlich Fig. 26 mit Fig. 27.

Am deutlichsten nimmt man die erhebliche Grössendifferenz bei den älteren pathologischen Individuen wahr, welche sich nach dem Ausschlüpfen aus der Gallerthülle, wie es zuweilen geschieht, noch gerade strecken und daher auch äusserlich am besten entwickelt erscheinen. In den Fig. 22, 26 und 33 sind solche neben den gleichalterigen Kontrollen (Fig. 20, 27 und 32) abgebildet. Zum Teil fällt die geringere Länge auf die Verkümmerung ihres Schwanzendes. Im Zusammenhang hiermit ist bei den Radiumlarven auch der Flossensaum weniger gut entwickelt. Meist bleibt auch nach dem Ausschlüpfen oder nach der künstlichen Befreiung aus der Gallerthülle das Schwanzende hakenförmig umgekrümmt (Fig. 21 und 25).

Ein deutlicher Unterschied zwischen den normalen und den Versuchstieren zeigte sich auch in der Zeit des Ausschlüpfens. Die ersteren verliessen ziemlich gleichzeitig am 4. Mai, dem 17. Tage nach der Befruchtung, mit Ausnahme eines einzigen Exemplares die Eihüllen und begannen dann auch gleich sich in gerader Richtung hurtig durch das Wasser fortzubewegen. In dem Radiumversuch schlüpften die Larven nach und nach während mehrerer Tage aus; am 4. Mai nur drei in jedem Versuch; andere folgten erst am nächsten Tage nach. Am 6. Mai lagen immer noch einige in der Gallerthülle zusammengerollt, da sie dieselbe wegen der Schwäche ihrer Bewegungen wohl nicht zu

sprengen vermochten. Sie wurden daher künstlich mit Nadeln freipräpariert.

Gewöhnlich sind die Larven des Radiumversuchs nicht imstande, sich nach dem Ausschlüpfen gerade zu strecken, sondern behalten die in den Hüllen entstandene Krümmung bei, so dass das Schwanzende bald nach rechts, bald nach links stärker oder schwächer umgeschlagen ist (Taf. I, Fig. 12, 13, 18, 19, 15—16, 24—25). Infolgedessen beginnen sie sich im Kreise herumzudrehen, wenn sie zu schwimmen versuchen. Nur ein kleiner Teil, der am normalsten und kräftigsten entwickelt ist, vermag sich gerade zu strecken (Fig. 22, 26 und 33) und in diesem Falle auch in gerader Richtung wie normal durch das Wasser zu eilen. In der Regel aber bleiben die Radiumlarven unbeweglich auf dem Boden des Gefässes liegen und führen nur bei Berührung mit der Nadel vorübergehend einige zuckende Bewegungen aus.

Während sich die Bauchwassersucht bei einigen sehr frühzeitig, während sie noch in den Hüllen sind, einstellt (Fig. 12, 13 und 15), entwickelt sie sich bei anderen erst nach dem Ausschlüpfen (Fig. 21, 22, 25 und 26), erreicht aber nie den hohen Grad, den wir bei den Kaulquappen mit ballonartig aufgetriebenem Leibe kennen gelernt haben; zuweilen ist sie überhaupt nur wenig aufgetreten (Fig. 24 und 26).

Auch noch in anderer Beziehung sind einige Unterschiede zwischen den Versuchstieren und den Kontrollen zu bemerken. So sind bei jenen (Fig. 12, 13, 15, 18, 19, 21 und 22) die Kiemen kümmerlicher als bei diesen (Fig. 11, 14, 17 und 20) entwickelt. Am Ende der dritten Woche tritt dies am meisten hervor. So zeigen die Fig. 18, 19, 21 und 22 eine kleine Zahl kurzer, unverzweigter Fäden, dagegen die Fig. 17 und 20 längere und reichlicher verzweigte, seitwärts und nach hinten weit vorspringende Kiemenbüschel. Auch bei 4 Wochen alten Tieren ist noch ein Unterschied zu sehen. (Vergleiche Fig. 24—26 mit Fig. 23 und 27.) Übrigens konnte die Blutzirkulation in den Kiemenfäden 26 Tage alter Radiumlarven bei schwacher Vergrösserung gut beobachtet werden.

Auch in der Ausbildung der vorderen Extremitäten sind die 3 Wochen alten Radiumlarven hinter den normalen Tieren etwas zurückgeblieben. Bei jenen sind die Vorderbeine seitwärts vorstehende, kurze Höcker mit wenig ausgeprägter Sonderung der

Zehen (Fig. 15, 16, 18, 19, 21 und 22), bei diesen sind sie fast doppelt so lang und am Ende durch tiefe Einschnitte in drei Zehen gegliedert (Fig. 17 und 20). Auch bei den 4 Wochen alten Tieren ist in der Länge und besseren Gliederung der vorderen Extremitäten ein deutlicher Unterschied zwischen den Fig. 24—26 auf der einen Seite und den Fig. 23 und 27 auf der anderen Seite nicht zu verkennen.

II. Teil.

Kreuzung der Eier von Triton vulgaris mit Samenfäden von Salamandra maculata, die 2 resp. 2½ Stdn. zwischen zwei starken Mesothoriumpräparaten bestrahlt wurden.

Bekanntlich lassen sich bei vielen Wirbeltierarten zwar die Eier mit artfremdem Samen befruchten, sterben dann aber nach regelmässigem Verlauf des Furchungsprozesses auf dem Stadium der Keimblase oder spätestens mit Beginn der Gastrulation unfehlbar ab. Dagegen entwickeln sich dieselben Objekte, wie in einer soeben erschienenen Abhandlung von meinem Sohn nachgewiesen worden ist, in annähernd normaler Weise weiter, wenn der artfremde Samen vor seiner Verwendung zur künstlichen Befruchtung längere Zeit mit kräftigen Mesothoriumpräparaten bestrahlt wurde. Derartige Versuche wurden von ihm an Eiern von Bufo vulgaris und von Rana viridis ausgeführt, die mit Samen von Rana fusca bastardiert wurden. In beiden Fällen unterblieb jetzt, einzig und allein infolge der Bestrahlung der Samenfäden, der Zerfall des Eies auf dem kritischen Stadium. Es liessen sich Larven züchten, die mit allen Organen ausgestattet waren und ein Alter von 3—4 Wochen erreichten. Ihre Entwicklung muss als eine parthenogenetische bezeichnet werden. Denn wie in der erwähnten Abhandlung in verschiedener Weise festgestellt ist, hat der artfremde Samen durch die Bestrahlung seine Wirksamkeit im Ei eingebüsst und ist gleich nach dem Eindringen und nach Anregung des Furchungsprozesses aus dem weiteren Entwicklungsverlauf gewissermassen ausgeschaltet worden.

Es lag daher nahe, bei meiner Untersuchung des Tritoneies den Versuch zu machen, ob nicht auch hier durch Vornahme einer Fremdbefruchtung ein ähnliches Ergebnis zu erreichen sei. Der Versuch wurde mit Samen von Salamandra maculata aus-

geführt. Dass diese Kreuzung möglich ist und zu einem gleichen Endergebnis wie die Kreuzung des Kröteneies mit Froschsamen führt, hat bereits in diesem Frühjahr H. Poll durch Experimente im Biologischen Institut ermittelt und darüber in der Gesellschaft naturforschender Freunde kurz berichtet. „Samenfäden von Salamandra maculosa", bemerkt er, „bringen das Ei von Molge vulgaris unter auffallend regelmässiger Furchung bis zur Blastula, niemals über diese Phase hinaus". Also war auch hier, da die bastardierten Eier auf dem Keimblasenstadium ausnahmslos absterben und zerfallen, die Vorbedingung für ein Mesothoriumexperiment in der oben angedeuteten Richtung gegeben. Der Verlauf desselben war auch in diesem Fall der von vornherein erwartete.

Drei Versuche wurden ausgeführt, zwei am 19. April, der dritte am 19. Mai. Die künstliche Befruchtung geschah in der früher angegebenen Weise. Am 19. April war von den getöteten Salamandermännchen nur wenig Milch aus den Samenleitern zu erhalten. Sie wurde ebenso, wie es schon für den Tritonsamen beschrieben worden ist, $2^1/_4$ Stunden zwischen zwei starken Mesothoriumpräparaten bestrahlt.

Nach dieser Zeit hatten schon viele Samenfäden ihre Beweglichkeit eingebüsst; der undulierende Saum liess unter dem Mikroskop nur noch schwache Wellenbewegungen wahrnehmen. Infolgedessen und bei der geringen Quantität der zur Verfügung stehenden Milch lieferte die Besamung einer kleinen Anzahl von Eiern nur eine geringe Ausbeute. Viele Eier blieben unbefruchtet, einige wenige teilten sich unregelmässig, wohl infolge einer beim Herauspräparieren eingetretenen mechanischen Schädigung durch Zerrung und dadurch verursachter Polyspermie; nur sechs Eier teilten sich in normaler Weise. Von ihnen begannen am 21. April vier Stück in Gastrulation einzutreten. Sie wurden vom übrigen Material behufs weiteren genaueren Studiums isoliert. Sie begannen sich von Tag zu Tag, ähnlich wie die Kontrollen, weiter zu entwickeln. Also auch hier war infolge der Bestrahlung des Samens der Zerfall der in Entwicklung begriffenen Eier auf dem kritischen Stadium vor der Gastrulation verhütet worden. Am 15. Tag nach der Befruchtung (4. Mai) sind zwei Larven aus den Gallerthüllen ohne künstliche Beihilfe ausgeschlüpft. Eine von ihnen sieht ziemlich normal aus, ist gestreckt und beginnt herum-

zuschwimmen, die andere dagegen hat schon starke Bauchwassersucht, so dass die Bauchhaut glashell durchsichtig ist (Taf. I, Fig. 28); sie ist nur imstande, kreisförmige und zitternde, wenn auch ziemlich lebhafte Bewegungen auszuführen; gewöhnlich bleibt sie ruhig auf dem Boden des Gefässes liegen und wird nur durch Berührung mit der Nadel zu den Kreisbewegungen veranlasst. Behufs weiterer Untersuchung wird sie am Tage des Ausschlüpfens gleich in Flemmingscher Flüssigkeit konserviert (Fig. 28).

Der Unterschied zu dem normalen, nur vier Tage älteren Kontrolltier (Fig. 14) ist auffällig genug. Zwischen dem gestreckten und schlanken Körper mit dem langen Schwanzende und mit den langen, am Kopf seitlich vorspringenden Kiemenfäden hier, und der plumpen Larve des Versuchs (Fig. 28) mit dem stark aufgetriebenen Bauch, mit den kurzen Kiemenstummeln, dem wenig entwickelten Kopf und dem kurzen Schwanz besteht ein grosser Kontrast. Auch beträgt ihre Länge nur wenig mehr als die Hälfte des Kontrolltieres.

Am nächsten Tag haben auch die beiden anderen Larven ihre Hüllen verlassen. Von ihnen hat eine das Schwanzende nach der rechten Seite eingekrümmt (Taf. I, Fig. 29). Da sie nur schwache Bewegungen ausführt, wird sie am 7. Mai in Pikrin-Sublimat-Essigsäure im Alter von 18 Tagen eingelegt. Sie sieht der nur einen Tag älteren Tritonlarve der Fig. 18 ausserordentlich ähnlich aus. Bei dieser war das Ei mit eigenem stark bestrahlten Samen befruchtet worden. Bei beiden ist das kurze Schwanzende, das von einem durchscheinenden Flossensaum umgeben ist, nach der rechten Seite scharf umgebogen. Bei beiden ist der Bauch durch Wassersucht, wenn auch nicht in dem hohen Grad wie in Fig. 28, aufgetrieben. Am Rücken des Kopfes sind hier wie dort die beiden Augen als helle, von einem schwarzen Pigmentring umgebene Flecken zu erkennen, hier wie dort springen ventralwärts zwei dünne Tentakeln und seitwärts kurze Kiemenfäden hervor. Auch die Extremitäten sind als kurze, ungegliederte Stummel angelegt. In der Haut sind zahlreiche schwarze Pigmentzellen in der schon früher besprochenen Weise in Linien angeordnet. Man vergleiche mit den Versuchstieren die normale, gerade gestreckte Larve (Fig. 17), die um ein Drittel länger ist, einen besser entwickelten Schwanz, einen breiteren und dünneren Flossensaum, einen scharf abgegliederten Kopf,

schön verzweigte Kiemenfäden, grössere, schon gegliederte Extremitäten mit Zehen etc. darbietet.

Die jetzt noch überlebenden zwei Larven des Versuchs sind gerade gestreckt, gut beweglich und schwimmen ziemlich hurtig durch das Wasser. Da aber am 16. Mai eine von ihnen in ihren Bewegungen schwächer zu werden anfängt, wird sie mit einer Kontrollarve wieder in Pikrin-Sublimat-Essigsäure konserviert, nachdem sie ein Alter von 27 Tagen erreicht hat (Fig. 31). Sie sieht viel normaler als die beiden anderen schon früher abgebildeten Larven (Fig. 28 und 29) aus. Denn sie ist nicht nur gerade gestreckt, sondern auch schlank, weil sich in diesem Fall keine Bauchwassersucht gebildet hat. Daher ist denn auch der Kopf viel breiter als der Rumpf. Auch die beiden Augen sind gut entwickelt. Die Unterschiede der Versuchslarve (Fig. 31) gegen die gleichalterige, daneben abgebildete Kontrolle (Fig. 30) bestehen nur in folgenden Momenten: Die erstere ist auch wieder etwa um ein Drittel kleiner. Das Schwanzende zumal ist weniger in die Länge entwickelt. Auch der Kopf ist etwas schmäler und kürzer, die Kiemen sind an ihm infolge ihrer mangelhaften Ausbildung kaum zu sehen. Die vorderen Extremitäten sind erheblich kleiner und stehen weniger weit vom Rumpf ab, als bei dem Kontrolltier (Fig. 30).

Die letzte Larve, welche sich noch gut bewegte, wurde weiter gezüchtet, doch nur drei Tage. Denn schon am 19. Mai wurde sie bei der Durchsicht des Gefässes tot im Wasser aufgefunden und war schon im Zerfall begriffen, so dass eine Konservierung nicht mehr vorgenommen werden konnte.

Der zweite, an demselben Tag wie der erste ausgeführte Versuch hatte wenig Erfolg. Von dem geringen Eimaterial teilten sich nur zwei Stück normal, drei unregelmässig, der Rest von zehn Eiern war nicht befruchtet worden. Am zweiten Tag begann bei den beiden normal geteilten Eiern die Gastrulation, am nächsten Tage wurde die Medullarplatte sichtbar. Im weiteren Verlauf trat bei einem Embryo, nachdem sich schon das Nervenrohr geschlossen und Kopf- und Schwanzende angelegt hatte, starke Bauchwassersucht auf, infolgedessen die Bauchwand zu einer dünnen Blase ausgedehnt wurde. Es schien daher zweckmässig, am 30. April den jetzt 11 Tage alten Embryo einzulegen. Zu dem Zweck musste er aus den Hüllen herauspräpariert werden.

Dabei platzte die dünne, durch Wassersucht aufgetriebene Bauchwand; doch führte der freigelegte Embryo noch Bewegungen mit seinem Rumpfe aus, besonders als er in die Konservierungsflüssigkeit, als welche in diesem Fall Zenkersche Lösung diente, gebracht wurde.

Der dritte Versuch wurde am 12. Mai ausgeführt. Er missglückte, da die Tritonweibchen schon am Mittwoch den 8. Mai eingefangen worden waren und aus Mangel an Zeit nicht gleich zum Experiment verwandt werden konnten. Infolgedessen hatten sie schon einen Teil der Eier unbefruchtet in das feuchte Moos, in welchem sie getrennt von den Männchen aufgehoben wurden, abgesetzt. Der andere Teil aber, welcher sich noch in den Oviducten befand und beim Töten der Tiere in der üblichen Weise herauspräpariert wurde, war schon in das Stadium der Überreife getreten. Dies lässt sich daraus schliessen, dass nach der Besamung nur anormale Entwicklung eintrat. Es kann daher jedem, der Tritoneier künstlich befruchten will, nur geraten werden, womöglich gleich oder bald nach dem Einfangen der Tiere das Material zu verarbeiten.

Der Samen von Salamandra maculosa, der diesmal in reicher Menge aus dem Vas deferens beim Ausschneiden hervorquoll, wurde 2 Stunden lang zwischen den beiden Mesothoriumkapseln bestrahlt. Die mit ihm vorgenommene Besamung von 60 Eiern hatte, wie schon gesagt, ein schlechtes Ergebnis, obwohl sich die Spermatozoen noch gut bewegten und die verwandte Milch reichlicher als in den beiden vorausgegangenen Versuchen war. Der grösste Teil zeigte zur Zeit, wo der Furchungsprozess hätte beginnen sollen, gar keine Veränderung. Einige liessen am animalen Pol zackige Pigmentlinien oder tiefe kraterförmige Einziehungen erkennen, woraus sich wohl ein Schluss auf das Eindringen von einem oder von mehr Samenfäden machen lässt. Nur wenige Eier teilten sich um 7 Uhr abends durch eine Einschnürung, aber unter ihnen auch nur ein einziges in zwei gleich grosse Zellen. Sie wurden zur weiteren Beobachtung von den übrigen getrennt. Nur das eine regelmässig zweigeteilte Ei entwickelte sich in normaler Weise weiter, und war um 8 Uhr abends in vier und 2 Stunden später in acht Zellen geteilt, während bei den übrigen die Entwicklung bald zum Stillstand kam. Am anderen Tag ist die Morula, später die Blastula entstanden.

Während der Gastrulation, die mit ziemlichen Verzögerungen eintrat, wurden Dotterkörnchen in den perivitellinen Raum entleert, was schon im Zusammenhang mit der Verlangsamung der Prozesse ein Anzeichen ist, dass eine grössere Störung vorlag. In der Folgezeit trat dies auch immer deutlicher hervor. Die stark verzögerte Entwicklung glich in vielen Beziehungen der Entwicklung der Eier, die mit 5 Minuten lang bestrahlten Samenfäden von Triton befruchtet wurden: die Medullarplatte war nur schwach ausgebildet. Sehr spät begannen Kopf- und Schwanzende als Höcker über die Oberfläche des Eies hervorzutreten. Da keine Aussicht vorhanden schien, die Larve noch zum Ausschlüpfen zu bringen, wurde sie am 21. Mai in Chrom-Sublimat-Essigsäure eingelegt. Sie hatte also ein Alter von 9 Tagen erreicht.

Die stark verzögerte und anormale Entwicklung wird wohl in diesem Fall auch als eine Folge der Überreife des Eies aufzufassen sein.

III. Teil.

Mikroskopische Untersuchung der auf parthenogenetischem Wege entwickelten Tritonlarven.

a) Chromosomenzählung.

Auf Grund meiner in sehr verschiedener Weise variierten Experimente mit Radium und Mesothorium hatte ich schon in früheren Arbeiten die relativ gute Entwicklung der Eier, die mit sehr intensiv und lange Zeit bestrahlten Samenfäden befruchtet werden, dadurch zu erklären versucht, dass das Chromatin des Samenkernes in diesem Falle stark geschädigt und zu weiterer Vermehrung unfähig geworden ist, dass es nach dem Eindringen des Samenfadens an der Karyokinese nicht mehr teil nimmt, also gewissermassen aus dem Entwicklungsprozess als ein kranker und unbrauchbar gewordener Bestandteil wieder ausgeschieden wird. Inzwischen ist die Richtigkeit dieser Ansicht durch eine Untersuchungsreihe am Froschei, welche auf diesen Punkt besonders gerichtet war, durch meine Tochter Paula auf das vollständigste bestätigt worden. In einer soeben in Bd. 81, H. 4 dieses Archivs veröffentlichten Arbeit konnte an Schnittserien von ihr gezeigt werden, dass während der Zweiteilung des Eies der Samenkern sich noch getrennt von den aus der ersten Karyokinese entstandenen Tochterkernen der beiden ersten Furchungs-

kugeln nachweisen lässt, dass er also die Verschmelzung mit dem Eikern nicht hat bewerkstelligen können, und dass er später nur in eine der beiden Halbkugeln und nach der Vierteilung nur in einen der vier Quadranten wie ein passiver Bestandteil mit übernommen wird.

Die Entwicklung der Froscheier, die mit stark bestrahlten Spermien besamt worden sind, muss daher, wie ich schon in meiner Radiumkrankheit tierischer Keimzellen und bei anderen Gelegenheiten erklärt hatte, als eine experimentell hervorgerufene Parthenogenese bezeichnet werden. Die Kerne derartiger Larven müssen haploide sein, wie ich mit Bestimmtheit glaubte voraussagen zu können.

Die Absicht, für diese Vorhersage nun auch den wirklichen Nachweis zu bringen, hatte mich hauptsächlich bestimmt, an die Untersuchung des Froscheies noch eine Paralleluntersuchung am Tritonei anzuschliessen. Denn die Grösse der Kernteilungsfiguren und der Chromosomen liess erwarten, dass es beim Studium geeigneter Körpergegenden möglich sein würde, die Anzahl der Chromosomen auf dem Stadium des Muttersternes genau zu bestimmen und so die Frage zu entscheiden, ob in Wahrheit die Kerne diploid wie nach normaler Befruchtung oder haploid infolge Ausschaltung des Samenkernes und bei künstlicher Parthenogenese sind.

Von der Untersuchung der Kernteilungsfiguren, die sich auf Querschnitten besonders am Hirn und Rückenmark in grosser Zahl finden, wurde von vornherein Abstand genommen, da man hier den Einwand erheben kann, dass durch den Schnitt ein Teil der Chromosomen entfernt sein könne. Sehr geeignet zur Entscheidung der aufgeworfenen Frage sind dagegen die feinen durchsichtigen Flossensäume, die schon Flemming in seinen klassischen Untersuchungen mit Vorliebe für das Studium der karyokinetischen Figuren benutzt hat.

An ausgeschlüpften, 3—4 Wochen alten Larven (Taf. I, Fig. 17—33) sind die Flossensäume schon breit und durchsichtig genug, um in ganzer Ausdehnung im Flächenpräparat mit der stärksten homogenen Immersion untersucht werden zu können. Es wurden daher von den Larven, die zu Querschnittserien verwandt wurden, die Schwanzenden gewöhnlich kurz vor der Gegend, wo der Enddarm ausmündet, quer abgeschnitten, mit Boraxkarmin

gut durchgefärbt und in Kanadabalsam entweder zwischen zwei Deckgläschen oder zwischen Objektträger und Deckgläschen in Balsam eingeschlossen. In derselben Weise wurde mit den Schwanzenden der Kontrollarven verfahren. Bei so jungen Larven findet sich im dünnen und ganz durchsichtigen Flossensaum nur eine feine Platte von Gallertgewebe, in welcher die sternförmigen Zellen noch in einer einfachen Lage verteilt sind (Taf. III, Fig. 8 und 9). Die Epidermis, die beide Flächen überzieht, besteht aus ein bis zwei Lagen stark abgeplatteter Zellen, deren grosse Kerne sehr unregelmässig geformt und häufig mit tiefen Einschnitten versehen sind. Die Flossensäume sind wenigstens in einem breiten Randbezirk dünn genug, um eine Durchmusterung sowohl der nach oben, als der nach unten gelegenen Epidermisflächen nach Kernteilungsfiguren zu gestatten. Von ihnen wird man in jedem Schwanzende, bei einiger Aufmerksamkeit auch bei den Radiumlarven, gewöhnlich eine grössere Anzahl auf den verschiedenen Stadien als Knäuel, Mutterstern und Tochterstern finden. Für die Chromosomenzählung sind günstig gelagerte Muttersterne weitaus am geeignetesten.

Schon bei schwächerer Vergrösserung gewinnt man den Eindruck, dass die Muttersterne bei den Radiumlarven an Chromosomen ärmer sind als bei den gleichalterigen Kontrolltieren. Bekanntlich beläuft sich bei den Amphibien, soweit bei ihnen Zählungen vorgenommen worden sind, die Chromosomenzahl im Mutterstern der Mitosen von somatischen Zellen auf 24. Die in der Literatur mitgeteilten Angaben hierüber beziehen sich gewöhnlich auf Larven und auf Samenmutterzellen von Salamandra maculata; ich verweise nur auf die Untersuchungen von Flemming, von Rabl, Meves u. a. Dasselbe Zahlenverhältnis, welches ja auch für Anuren angegeben wird, kehrt auch bei Triton wieder.

Da bei den Radiumlarven, wie ich gleich vorausgreifend hervorheben will, die Zahl der Chromosomen im Mutterstern unter der Norm bleibt, was schon bei schwacher Vergrösserung und bei Vergleichung dieser Kernteilungsbilder mit denen von Kontrolltieren dem Beobachter auffällt, so wird die Feststellung zwar etwas erleichtert, bleibt aber in manchen Fällen noch immer schwierig. Denn bei ungünstiger und dichter Lage einzelner Kernschleifen, über- und nebeneinander, und bei verschiedenartiger Überkreuzung ihrer Schenkel ist zuweilen eine genaue optische Isolierung

derselben durch Einstellung der Objektivlinse auf verschiedenen Ebenen mit der Mikrometerschraube doch nicht möglich. So blieb ich bei der Analyse einiger Muttersterne aus den angegebenen Gründen unsicher, ob zehn, elf oder zwölf Chromosomen vorhanden sind. Doch liess sich immerhin auch an solchen ungünstigen Fällen feststellen, dass jedenfalls die Zahl Zwölf nicht überschritten wird.

Zur genauen Ermittelung des wirklichen Sachverhalts wird der Beobachter unter gewöhnlichen Verhältnissen immerhin darauf angewiesen sein, unter einer grösseren Zahl von Kernteilungsfiguren sich günstige Muttersterne mit gut gelagerten und orientierten Kernschleifen auszuwählen und die Zählung vorzunehmen. Zwei derartige Musterfälle sind in den Fig. 34 und 35 a und b (Taf. I) dargestellt. Wegen der günstigen Lagerung der Chromosomen schien es möglich, eine photographische Aufnahme vom Mutterstern bei 1000 facher Vergrösserung zu gewinnen. Herr Professor Poll hatte die Freundlichkeit, eine solche mit Hilfe des photographischen Apparats des Biologischen Instituts zu versuchen, was ihm auch in jeder Beziehung gut gelungen ist. Schon die unretuschierten Abzüge der photographischen Platten, die in den Fig. 34 a und 35 a wiedergegeben sind, lassen die Zahl und Form der Chromosomen mit einer annähernden Genauigkeit erkennen. Die noch bestehenden Zweifel über einzelne Punkte der Photographie waren leicht dadurch zu beseitigen, dass der Beobachter bei mikroskopischer Analyse des Präparates bei jeder Schleife ihre Form und Lage durch verschiedene Einstellung genau feststellt, auf dem photographischen Abzug die betreffende Schleife genauer nachzeichnet und auf diese Weise die Stellen, wo zwei oder drei Fäden sich in verschiedenen Ebenen schneiden, naturgetreu wiedergibt. Nach diesem Verfahren sind die zwei Figuren 34 b und 35 b gewonnen worden, auf denen jede Schleife durch Überzeichnung der Photographie in allen Details auf das klarste zu unterscheiden ist.

Besonders weit auseinander, wie es nur sehr selten beobachtet wird, liegen die Chromosomen in der Fig. 35 b (Taf. I). Nur wenige von ihnen kreuzen sich in ihrem Verlauf; die meisten von ihnen liegen fast vollständig isoliert. Bei der Zählung, die sich bei einer Vergrösserung mit Zeiss' Ölimmersion Apochromat 2 mm auf das leichteste bewerkstelligen lässt, ergibt sich sofort die Zahl

Zwölf. Dabei gewinnt man den Eindruck, dass die einzelnen Chromosomen, wie dies durch sorgfältige Messungen an Muttersternen von Spermatogonien des Erdsalamanders von Meves nachgewiesen worden ist, nicht unbeträchtliche Unterschiede in ihrer Länge darbieten.

Eine mehr der Norm entsprechende dichte Anordnung der einzelnen Segmente eines Muttersterns findet sich in dem zweiten, auf photographischem Wege erhaltenen, und durch Überzeichnung in grösserer Deutlichkeit wiedergegebenen Bild (Fig. 34 b). Hier sind die einzelnen Schleifen mit ihren Umbiegungsstellen mehr kranzförmig um das helle Polfeld angeordnet, liegen dichter neben- und in zwei Ebenen übereinander und kreuzen sich in ihrem Verlauf. Trotzdem macht es keine Schwierigkeit, eine jede von einem Ende zum anderen durch verschiedene Einstellung mit der Mikrometerschraube zu verfolgen und den ganzen Stern in seine Bestandteile aufzulösen. Auch in diesem zweiten Beispiel konnte nicht der geringste Zweifel darüber bestehen, dass die Zahl der Chromosomen nicht mehr und nicht minder als 12 beträgt und daher um die Hälfte hinter der Norm von 24 zurückbleibt.

Wie ich selbst, haben auch die Herren Poll und Scheffer durch mehrfach vorgenommene Zählung die Überzeugung von der Richtigkeit dieses Tatbestandes gewonnen. Ich betone dies um so mehr, als die hier mitgeteilte Beobachtung der erste Fall in der Literatur ist, dass im Stamm der Wirbeltiere eine Verringerung der Zahl der Chromosomen auf die Hälfte der üblichen in somatischen Zellen sicher nachgewiesen worden ist. Von dem so fest begründeten Zahlengesetz der Chromosomen liegt hier eine wichtige Ausnahme vor, die durch unseren experimentellen Eingriff, durch die intensive Bestrahlung der zur Befruchtung verwandten Samenfäden, allein verursacht sein kann. Wenigstens für die Epidermiszellen kann es keinem Zweifel unterliegen, dass ihre Kerne nach der Terminologie der Botaniker anstatt diploid nur noch haploid sind. Diese wichtige Feststellung ist entscheidend für unsere Auffassung, dass die Entwicklung der einen Gruppe von Radiumlarven als eine experimentell parthenogenetische gedeutet und erklärt werden muss.

Die haploiden, in den Fig. 34 und 35 abgebildeten Kernteilungsfiguren gehören Radiumlarven an, die mit D^5 im Protokolle beziffert wurden und bei der Konservierung ein Alter von 24 Tagen

erreicht hatten. Sie entsprechen in ihrer Grösse und in dem Grad ihrer Entwicklung im grossen und ganzen der in Fig. 26 abgebildeten, aber drei Tage älteren Larve D[6]. Auch der Unterschied zu der normalen Kontrollarve ist der gleiche, wie ihn ein Vergleich von Fig. 26 mit dem kräftiger entwickelten und längeren Kontrolltiere, Fig. 27, darbietet.

b) Kerngrösse und Kernplasmarelation bei Radiumlarven mit haploider Chromosomenzahl.

Im Laufe der letzten Jahre sind zahlreiche Untersuchungen erschienen, durch welche für einige Pflanzen und für wirbellose Tiere der Nachweis erbracht worden ist, dass die Grösse der ruhenden Kerne von der Zahl der Chromosomen, die bei der Karyokinese sie zusammensetzen, wesentlich mit bestimmt wird. Nach den am Seeigelei von Boveri angestellten Experimenten sind die Kerne der Embryonalzellen, die sich aus einem kernlosen Eifragment nach Befruchtung mit einem einzelnen Samenfaden entwickelt haben, in auffälliger Weise kleiner, als bei normal befruchteten Eiern, deren Kerne nach vorausgegangener Verschmelzung von Ei- und Samenkern entstanden sind. Die Ursache für die Grössendifferenz ist hier eben einfach in dem Umstand zu suchen, dass die einen Kerne haploid, die anderen diploid sind. Und dementsprechend wurden auch Kerne erhalten, welche diejenigen normaler Eier an Grösse übertrafen, wenn infolge experimenteller Eingriffe die Chromosomenzahl auf das Doppelte der Norm, so bei Strongylocentrotus von 36 auf 72, vermehrt worden war.

Sowohl im Tier- wie im Pflanzenreich gibt es einzelne Arten, die in zwei oder drei Varietäten auftreten und bei denen das unterscheidende Hauptmerkmal in der verschiedenen Zahl ihrer Chromosomen besteht, die das Einfache, Doppelte oder Dreifache beträgt. Der zuerst bekannt gewordene Fall ist Ascaris megalocephala mit seinen beiden Varietäten, die ich mit den Namen univalens und bivalens nach ihrer einfachen oder doppelten Chromosomenzahl unterschieden habe.

In der vierten Auflage meiner Allgemeinen Biologie habe ich im zehnten Kapitel die Mehrzahl der bis jetzt bekannt gewordenen Fälle kurz zusammengestellt und über sie bemerkt: „Ein ähnliches Verhältnis wie zwischen Ascaris megalocephala

univalens und bivalens hat Gates bei den Mutationen von Oenothera aufgefunden, und zwar zwischen Oenothera gigas und Oenothera Lamarckiana. Oenothera Lamarckiana hat 14, Oenothera gigas dagegen 28 Chromosomen; ihre Kerne sind daher nach der Nomenklatur der Botaniker als tetraploide zu bezeichnen. Ebenso unterscheiden sich, wie Tischler festgestellt hat, die einzelnen Rassen der Essbanane (Musa sapientium) als var. univalens, bivalens und trivalens. „Dole" hat 8, „Radjat Siam" 16, „Kladi" 24 Chromosomen in den Zellen nach erfolgter Reduktion. Dementsprechend verhalten sich auch ihre Kernvolumina wie 1:2:3. Ebenso findet man im Genus Dahlia nach der Angabe von Ishikawa Varietäten mit einfacher und doppelter Chromosomenzahl. Sehr mannigfaltige Zustände in bezug auf die Chromosomenzahl beobachteten El. und Em. Marchal bei mehreren Moosen. Sie beschreiben, je nachdem Aposporie besteht oder geschlechtliche Formen vorliegen, haploide, diploide und tetraploide Zellkerne und eine diesen Chromosomenzahlen entsprechende proportionale Zunahme im Volum der Kerne und der Zellen."

Die bis jetzt vorliegende Literatur über das Verhältnis von Chromosomenzahl und Kerngrösse hat Günther Hertwig in seiner soeben erschienenen Abhandlung: „Durch artfremden, radiumbestrahlten Samen induzierte Parthenogenesis bei Wirbeltieren", eingehend in kritischer Weise besprochen und zugleich einen neuen Beitrag für sie durch Vergleich der Kerngrössen von parthenogenetisch entwickelten Krötenlarven mit normalen Kontrolltieren geliefert. Ich kann daher, indem ich auf die dort gegebene Darstellung (Arch. f. mikr. Anat., Bd. 81, II. Abt., S. 87) verweise, gleich auf die Ergebnisse eingehen, die ich durch das Studium der Kern- und Zellgrössen bei den Tritonlarven der Radiumexperimente, verglichen mit denjenigen der Kontrolltiere, gewonnen habe.

Bei dem Vergleich sind folgende Punkte im Auge zu behalten:

1. Die in bezug auf Kern- und Zellgrösse miteinander verglichenen Tiere sind in genau dem gleichen Alter, vom Moment der Befruchtung an gerechnet. Doch bestehen zwischen ihnen in bezug auf den Entwicklungsgrad einzelner Organe zuweilen geringe Unterschiede, da die Radiumlarven nicht nur kleiner,

[1]) Oskar Hertwig, Allgemeine Biologie, IV. Aufl. 1912, Kapitel X. II. Die Kernplasmarelation, S. 276—280.

sondern auch in ihrer Ausbildung, allerdings nur wenig, zurückgeblieben sind, z. B. in der Entwicklung der Kiemen, der Schichtung in der Retina, dem Zustand des Primordialcraniums etc.

2. Die miteinander verglichenen Radium- und Kontrollarven sind bis zum Einschluss der Schnittserien in Kanadabalsam in absolut der gleichen Weise behandelt worden. Sie wurden in ein und demselben Glas zur gleichen Zeit in derselben Konservierungsflüssigkeit, entweder in Pikrin-Sublimat-Essigsäure oder in Zenkerscher oder in Flemmingscher Flüssigkeit konserviert, sie wurden gleichzeitig durch Alkohol von verschiedener Konzentration hindurchgeführt und eventuell in Boraxkarmin durchgefärbt, wenn nicht die Färbung erst später an den Schnitten vorgenommen wurde; sie wurden gleichzeitig in absoluten Alkohol, Xylol und Paraffin gebracht und zuletzt in gleich dicke Schnitte, gewöhnlich von 10 μ, zerlegt. Veränderungen durch Schrumpfung etc. müssen daher an den verglichenen Objekten in genau derselben Weise erfolgt sein.

3. Zur vergleichenden Messung wurden Kerne desselben Gewebes von genau entsprechenden Körpergegenden gewählt; z. B. wurden Nervenkerne am Übergang von der Medulla oblongata in das Rückenmark zwischen den letzten Schnitten der Ohrbläschen gemessen.

4. Die Messungen wurden an genau ausgeführten Zeichnungen des auf das Tausendfache vergrösserten mikroskopischen Präparates ausgeführt. Es wurde hierzu der Leitzsche Zeichenapparat benutzt, der sich für solche Zwecke in vorzüglicher Weise eignet und ein genaueres Resultat als die Zeichnung mit Hilfe des Zeichenspiegels und selbst als die direkte Messung mit dem Okularmikrometer zu liefern scheint. Beide Vergleichsobjekte wurden immer auf dasselbe Zeichenblatt bei unveränderter Einstellung des Leitzschen Apparates unmittelbar nacheinander aufgezeichnet und später mit Zirkel und Millimetermaßstab gemessen.

5. Um einen Durchschnittswert zu gewinnen, wurden immer 10 bis 20 Kerne ohne oder mit den zugehörigen Zellkörpern gemessen; aus den Messungen wurde in üblicher Weise das Mittel festgestellt. Denn wie sich jeder leicht überzeugen kann, sind Zellen und Kerne eines Gewebes niemals von absolut der gleichen Grösse, sondern bieten mehr oder minder geringe Schwankungen um einen Mittelwert dar.

6. Alles in allem kann daher behauptet werden, dass die mitgeteilten Maße den Grad von Exaktheit besitzen, der nach dem gegenwärtigen Stand unserer Hilfsmittel zu erreichen ist.

Zur Vornahme von Messungen eignen sich bei Tritonlarven am besten die Kerne von Nervenzellen, von Leberzellen, von roten Blutkörperchen. Dagegen sind Epidermiszellen vom Flossensaum, die bei Frosch- und Krötenlarven empfehlenswert sind, weil man sie am Totalpräparat der Schwanzflosse studieren kann, bei Triton nicht geeignet; denn ihre Kerne sind hier zum grössten Teil lappig und mit tiefen Einschnitten versehen und bieten daher sehr unregelmässige Konturen dar. Zum Vergleich von Kern und Zellgrösse sind wohl die roten Blutkörperchen die besten Objekte. Meine jetzt mitzuteilenden Messungen betreffen daher 1. die Kerne von Nervenzellen, 2. die Kerne von Leberzellen, 3. die Kerne von Blutkörperchen und die Zellgrösse derselben, 4. die Kerne von Muskelfasern, 5. die Dimensionen der Gallertzellen und ihre Zahl in einem bestimmten Flächenbezirk.

Die in Millimetern wiedergegebenen Maße beziehen sich auf Kerne und Zellen, die genau bei 1000facher Vergrösserung gemessen sind. Sie müssen daher mit 1000 dividiert werden, um die wirklichen Werte für die Durchmesser zu erhalten. In den Tabellen stehen in der ersten Reihe die Ziffern für die gemessenen Kerne, in der zweiten Reihe die Zahlen für ihren längsten und kleinsten Durchmesser, in der dritten Reihe das Produkt beider, in der vierten Reihe die Hälfte desselben zur Verwertung als mittleren Durchmesser; Kerne und Zellen werden in schematischer Weise als Kugeln behandelt, um Annäherungswerte für Oberfläche und Inhalt nach dem auch von Gates, Tischler und Günther Hertwig geübten Verfahren berechnen zu können.

1. Maße von Kernen der Nervenzellen aus dem hinteren Abschnitt der Medulla oblongata.

Die Messungen wurden an Durchschnitten der 19 Tage alten Larve D^3, die in Pikrin-Sublimat-Essigsäure konserviert worden war, vorgenommen. Wer bei starker Vergrösserung Querschnitte durch das Zentralnervensystem einer Radium- und einer Kontrollarve (Taf. I, Fig. 19 und 17) vergleicht, wird bei einiger Aufmerksamkeit sofort auf die Verschiedenheit der Kerngrösse aufmerksam werden.

Die Textfig. 1 A und B zeigt uns je sieben Stück von Nervenkernen in je einer Gruppe, in A von der Kontrolle (Taf. I, Fig. 17), in B von der Radiumlarve (Fig. 19) zusammengestellt.

Tabelle I. Nervenkerne der Medulla oblongata.

A. Kontrollarve D^3				B. Radiumlarve D^3			
Nr. 1	13 u. 10	23	11,5	Nr. 1	10,5 u. 9,5	20	10
„ 2	11,5 u. 9,5	21	10,5	„ 2	11 u. 8	19	9,5
„ 3	14 u. 11	25	12,5	„ 3	11 u. 8	19	9,5
„ 4	12 u. 11	23	11,5	„ 4	10 u. 9	19	9,5
„ 5	12 u. 10	22	11	„ 5	11 u. 8	19	9,5
„ 6	14 u. 10	24	12	„ 6	13 u. 8	21	10,5
„ 7	13 u. 9	22	11	„ 7	10 u. 8	18	9

Produkt der Durchmesser
aller 7 Kerne $= 80$ $= 67.5$

Demnach beträgt der mittlere Durchmesser des einzelnen Kernes: für die Kontrollarve 80 dividiert durch $7 = 11,4$,
für die Radiumlarve 67,5 dividiert durch $7 = 9,6$.

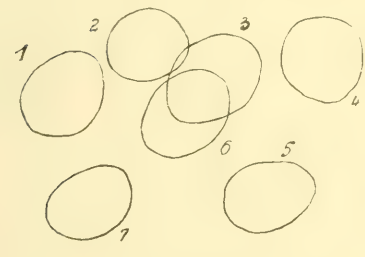


Fig 1 A.

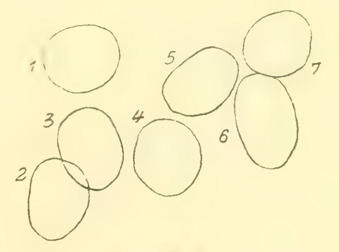


Fig. 1 B.

Hiernach lassen sich dann weiter aus dem mittleren halben Durchmesser oder dem Radius (r) durch Erhebung zur 2. oder 3. Potenz annähernd richtige Vergleichswerte einerseits für die Kernoberflächen, andererseits für die Kernvolumina berechnen. Wir erhalten also in unserem Fall:

A. Controllarve	B. Radiumlarve
$r = 5,7$	$r = 4,8$
$r^2 = 32.5$	$r^2 = 23$
$r^3 = 185$	$r^3 = 110.$

2. Maße von Kernen der Leberzellen.

Die Messungen wurden an Serien von 10 μ dicken Frontalschnitten (Taf. III, Fig. 4—7) durch 24 Tage alte Larven (D^5) ausgeführt. Es sind dies dieselben Objekte, welche uns später auf Seite 41 zur Vergleichung der Grössenverhältnisse verschiedener Organe dienen werden.

Die Kerne von Leberzellen sind in mancher Beziehung noch besser als solche von den Nervenzellen für unsere Frage geeignet, da sie sich am meisten der Kugelform nähern und daher am ehesten eine zutreffende Ermittelung ihres Volums möglich erscheinen lassen. Von je 14 Leberzellenkernen wurden folgende Maße bei dem Kontrolltier und der Radiumlarve erhalten und zur Berechnung der mittleren Radiuslänge, der mittleren Kernoberfläche und des mittleren Volumens verwertet.

Tabelle II. Leberzellenkerne.

A. Kontrollarve D^5				B. Radiumlarve D^5			
Nr. 1	12 u. 10	22	11	Nr. 1	9 u. 7	16	8
„ 2	12 u. 11	23	11,5	„ 2	11 u. 9	20	10
„ 3	11 u. 10	21	10,5	„ 3	10 u. 8,5	18,5	9,25
„ 4	12 u. 12	24	12	„ 4	10 u. 8	18	9
„ 5	14 u. 11	25	12,5	„ 5	9,5 u. 8	17,5	8,75
„ 6	12 u. 11	23	11,5	„ 6	10 u. 8	18	9
„ 7	13 u. 12	25	12,5	„ 7	10 u. 9	19	9,5
„ 8	13 u. 10	23	11,5	„ 8	10 u. 9	19	9,5
„ 9	13 u. 9	22	11	„ 9	11 u. 10	21	10,5
„ 10	13 u. 12	25	12,5	„ 10	11 u. 11	22	11
„ 11	12 u. 10	22	11	„ 11	11 u. 9	20	10
„ 12	14 u. 11	25	12,5	„ 12	9,5 u. 8	17,5	8,75
„ 13	13 u. 10	23	11,5	„ 13	9 u. 8	17	8,5
„ 14	13 u. 11	24	12	„ 14	9 u. 9	18	9

Produkt der Durchmesser
aller 14 Kerne = 163,5 = 130,75

Hieraus lassen sich dann weiter folgende Werte für den einzelnen Kern berechnen:

A. Kontrollarve		B. Radiumlarve	
mittlerer Durchmesser	= 11,7	mittlerer Durchmesser	= 9,3
mittlerer Radius (r)	= 5,85	mittlerer Radius (r)	= 4,65
r^2	= 34,2	r^2	= 21,6
r^3	= 200	r^3	= 100,4

Zur Veranschaulichung der Grösse der Leberzellkerne sind von den 14 gemessenen und in der Tabelle aufgeführten Exemplaren je fünf von der Kontrollarve (Textfig. 2 A) und je fünf von der Radiumlarve (Textfig. 2 B) bei tausendfacher Vergrösserung abgebildet werden. Die Ziffern der einzelnen Kerne 10, 11 und 7, 8 etc. entsprechen den in der Tabelle aufgeführten Nummern der ersten Reihe.

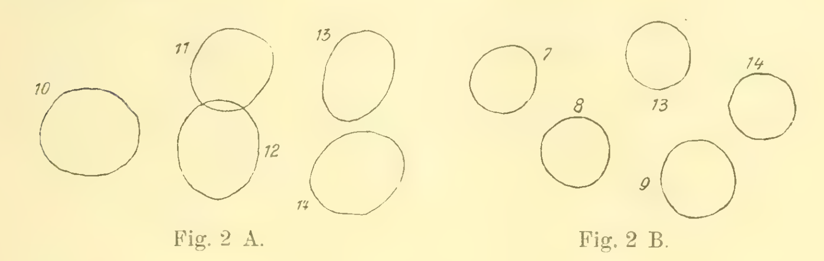


Fig. 2 A. Fig. 2 B.

3. Maße von roten Blutscheiben und deren Kernen.

Da die roten Blutkörperchen der Amphibien ellipsoide Scheiben sind, muss man unter ihnen zur Messung nur solche auswählen, welche mit ihrem Längs- und Breitendurchmesser genau in der Schnittfläche liegen. Hierzu wurde von mir an den Frontalschnitten von Larve D^5 das in den Herzventrikeln enthaltene Blut benutzt.

Tabelle IIIa. Kerne von Blutkörperchen.

A. Kontrollarve D^5				B. Radiumlarve D^5			
Nr. 1	12 : 7	19	9,5	Nr. 1	10 : 6	16	8
„ 2	12,5 : 7	19,5	9,75	„ 2	10 : 6	16	8
„ 3	11 : 7	18	9	„ 3	11 : 6	17	8,5
„ 4	12 : 7	19	9,5	„ 4	8 : 6	14	7
„ 5	13 : 6	19	9,5	„ 5	8 : 5	13	6,5
„ 6	11,5 : 7	18,5	9,25	„ 6	8 : 5	13	6,5
„ 7	12 : 6	18	9	„ 7	8 : 5	13	6,5
„ 8	12,5 : 7	19,5	9,75	„ 8	10 : 6	16	8
„ 9	12 : 7	19	9,5	„ 9	8 : 5	13	6,5

Produkt der Durchmesser
aller 9 Kerne = 84,75 = 65,5

Hieraus lassen sich dann weiter folgende Werte für den einzelnen Kern berechnen:

A. Kontrollarve		B. Radiumlarve	
mittlerer Durchmesser =	9,4	mittlerer Durchmesser =	7,28
mittlerer Radius (r) =	4,7	mittlerer Radius (r) =	3,64
r^2 =	22,1	r^2 =	13,25
r^3 =	104	r^3 =	48,23

Um die Kernplasmarelation zu ermitteln, wurden auch noch die Längs- und Querdurchmesser von sechs roten Blutkörperchen ausgemessen.

Die bei 1000facher Vergrösserung gezeichneten und gemessenen, in der Tabelle III a und b aufgeführten neun Blut-

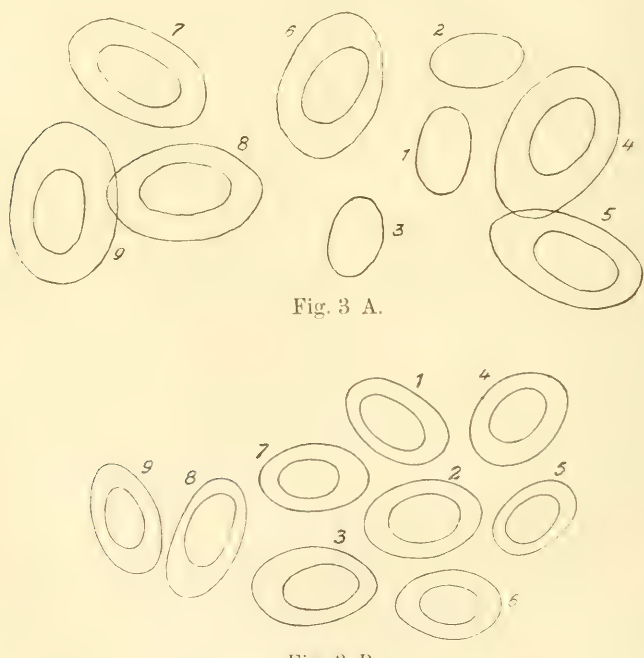


Fig. 3 A.

Fig. 3 B.

körperchen mit ihren Kernen sind in der Textfig. 3 A und 3 B in genau entsprechender Grösse reproduziert. Die Zahlen der einzelnen Blutkörperchen entsprechen den in den Tabellen angegebenen Nummern der ersten Reihe. In Textfig. 3 A sind von drei Blutkörperchen (1—3) nur die Kerne gezeichnet worden.

Tabelle IIIb. Maße von ganzen Blutkörperchen.

A. Kontrollarve D^5			B. Radiumlarve D^5		
Nr. 4	22 u. 14,5	36,5	Nr. 1	14,5 u. 9,5	24
„ 5	22 u. 11,5	33,5	„ 2	16 u. 10	26
„ 6	20 u. 13	33	„ 3	16,5 u. 10,5	27
„ 7	20 u. 12	32	„ 4	14,5 u. 11	25,5
„ 8	21 u. 13	34	„ 7	14,5 u. 9,5	24
„ 9	22 u. 14	36	„ 9	15 u. 9	24

Produkt der Durchm. aller
6 Blutkörperchen = 205 = 150,5

Daher der Mittelwert des Produktes beider Durchmesser für ein einzelnes rotes Blutkörperchen:

A. Kontrollarve B. Radiumlarve
205 durch 6 dividiert = 34,1 150,5 durch 6 dividiert = 25,1

4. Maße der Kerne der embryonalen Muskelfasern.

Auf dem Frontalschnitt durch die Larven D^5 (Taf. III, Fig. 6 und 7) sind die Muskelsegmente in regelmässiger Folge getroffen.

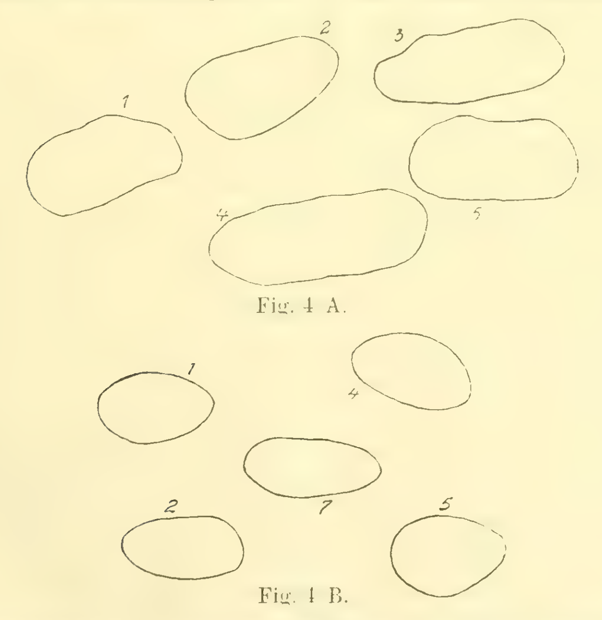


Fig. 4 A.

Fig. 4 B.

Ihre embryonalen quergestreiften Fasern enthalten noch wenige Kerne, doch sind diese von ansehnlicher Grösse, sie sind erheblich

länger wie breit und zum Teil von unregelmässiger Form. Zwischen Kontrolltier und Radiumlarve ergibt sich wieder ein erheblicher Unterschied auch in der Grösse ihrer Muskelkerne, wie ein Vergleich der beiden Textfig. 4 A von der Kontrolle und 4 B von der Radiumlarve lehrt.

Tabelle IV. Kerne von quergestreiften Muskelfasern.

A. Kontrollarve D^5			B. Radiumlarve D^5		
Nr. 1	21 u. 11	32	Nr. 1	16 u. 9,5	25,5
„ 2	21 u. 11	32	„ 2	17 u. 8	25
„ 3	26 u. 9,5	35,5	„ 3	16 u. 9	25
„ 4	30 u. 11	41	„ 4	18 u. 9	27
„ 5	23 u. 11	34	„ 5	15,5 u. 11	26,5
„ 6	26 u. 9	35	„ 6	15 u. 8	23
„ 7	26 u. 7	33	„ 7	18 u. 8	26

Produkt der Durchmesser
aller 7 Kerne = 242,5 = 178,0

Daher der Mittelwert des Produktes beider Durchmesser für einen einzelnen Muskelfaserkern:

A. Kontrollarve B. Radiumlarve
242,5 durch 7 dividiert = 34,6 178 durch 7 dividiert = 25,4

Die geringere Kerngrösse bei der Radiumlarve hat dann wieder eine geringere Länge ihrer Muskelfasern zur Folge und diese findet wieder in einer entsprechenden Kürze des Muskelsegmentes und schliesslich der ganzen Radiumlarve im Vergleich zur Kontrolle ihren adäquaten Ausdruck (Taf. III, Fig. 6 und 7). Vom Muskelsegment in der Nachbarschaft des Schultergürtels an gerechnet nach hinten nehmen etwa sieben Segmente der Kontrolle (Fig. 7) denselben Raum ein wie acht Segmente der Radiumlarve (Fig. 6) und sind zusammen in den beiden bei genau derselben Vergrösserung photographierten und reproduzierten Figuren etwa 6,2 mm lang. Da die Radiumlarve etwas nach der Seite gekrümmt ist, macht sich dies auch in dem Ausmaß ihrer Segmente an der konkaven und konvexen Körperseite geltend. Denn an der konkaven Seite messen fünf Segmente an dem Chordarand 3,5 mm, am Hautrand 3,3 mm, dagegen an der konvexen Seite infolge der hier stattfindenden Dehnung neben der Chorda 3,7 mm und

an der Hautseite 4 mm. Dagegen beträgt das Ausmaß für fünf Segmente der Kontrolle beiderseits sowohl am Chorda- wie am Hautrand gleichmässig 4,4 mm.

5. Grössen- und Zahlenverhältnisse der Gallertzellen im Flossensaum.

Die Gallertplatte im Rand des Flossensaumes ist bei Tritonlarven im Alter von 2—4 Wochen so dünn, dass sich in ihr nur eine Lage von Gallertzellen, die fast alle in einer Ebene ausgebreitet sind, vorfindet. Bei Flächenpräparaten von Schwanzflossen, die zur Zählung der Chromosomen von Kernteilungsfiguren benutzt wurden, fiel mir beim Vergleich der Radiumlarven mit ihren Kontrollen öfters auf, dass die Gallertzellen bei ersteren viel kleiner und zugleich zahlreicher sind als bei den Kontrolltieren. Dies veranlasste mich, bei mittelstarker Vergrösserung eine photographische Aufnahme des Flossensaumes von der Larve E (Taf. I, Fig. 32 und 33) zu machen, bei welcher mir die Unterschiede besonders gut ausgeprägt erschienen. Bei richtiger Einstellung der Objektivlinse auf die Schicht der Gallertzellen kommen diese ohne Ausnahme in voller Zahl mit ihren Ausläufern zum Vorschein. Zwei gleich grosse Bezirke vom Flossenrand sind in den Fig. 8 und 9 (Taf. III) reproduziert. Der Gegensatz zwischen beiden muss jedem Beobachter sofort in die Augen fallen. Bei dem Kontrolltiere sind in dem abgebildeten Bezirk (Fig. 8) nur 25 sternförmig verzweigte, gleichmässig verteilte Zellen vorhanden, bei der Radiumlarve (Fig. 9) beträgt dagegen ihre Zahl etwas mehr als das Doppelte, nämlich 56. Auch ist, da die Vergrösserung ein und dieselbe ist, leicht zu erkennen, dass im ersten Fall die Sternzellen viel grösser und protoplasmareicher sind und dickere und längere Ausläufer aussenden, die ein viel grösseres Feld der Gallertplatte für sich in Anspruch nehmen, als im zweiten Fall, wo sich die viel feineren Fäden nur in einem viel kleineren Umkreis des Kernes verfolgen lassen.

Da jeder der beiden abgebildeten Bezirke 49 qmm enthält, fällt beim Kontrolltier auf jede der 25 Gallertzellen ein Territorium von 2 qmm, bei der Radiumlarve auf jede der 56 Zellen aber nur ein Territorium von 0,87 qmm, also von kaum halber Grösse.

Zur Vervollständigung gebe ich auch noch ein paar Maße von der Kerngrösse. Allerdings ist hierbei zu berücksichtigen,

dass die Kerne der Gallertzellen für Messungen recht ungeeignete Objekte sind, da sie im allgemeinen sehr lang gestreckt und schmal, zugleich aber mit unregelmässigen Ausbuchtungen und Einschnürungen, je nach der Abgangsstelle grösserer Protoplasmaäste, bedeckt sind. Ich gebe wieder von drei Kernen den Längs- und Quermesser, letzteren an seiner breitesten Stelle.

Tabelle V. Kerne von Gallertzellen.

A. Kontrollarve E			B. Radiumlarve E		
Nr. 1	24 u. 7	31	Nr. 1	14 u. 6	20
„ 2	21 u. 7	28	„ 2	14 u. 8	22
„ 3	18 u. 7	25	„ 3	13 u. 7	20
Produkt der 2 Durchmesser aller Kerne . .		= 84			= 62

Daher der Mittelwert des Produktes beider Durchmesser für einen einzelnen Gallertzellenkern:

A. Kontrollarve — 84 durch 3 dividiert = 28

B. Radiumlarve — 62 durch 3 dividiert = 21

c Grössenverhältnisse der Larven und ihrer einzelnen Organe.

Wenn, wie nicht zu bezweifeln ist, in unseren Experimenten die Reduktion der Chromosomenzahl auf die Hälfte zu einer entsprechenden Volumverminderung der Kerne und diese wieder nach dem Lehrsatz der Kernplasmarelation zu einer entsprechenden Abnahme der Zellengrösse geführt hat, so lässt sich wohl als eine weitere Folgeerscheinung hiervon auch das mit grosser Regelmässigkeit wiederkehrende Missverhältnis betrachten, das sowohl zwischen der Grösse der Radiumlarven und ihrer Kontrollen, als auch zwischen der Grösse von einzelnen ihrer Organe in auffälliger Weise besteht. Wir wollen versuchen, uns auch über die hier bestehenden Unterschiede einen zahlenmässigen Ausdruck zu verschaffen.

1. Maßverhältnisse der ganzen Larven.

Dass die Radiumlarven ganz erheblich kleiner sind als die ihnen entsprechenden, genau gleichalterigen Kontrollarven, hat uns die auf S. 17 gegebene Beschreibung schon für alle Experimente gelehrt. Auch wird uns hierüber ein Blick auf Taf. I und

ein Vergleich der Fig. 11 mit 12 und 13, der Fig. 14 mit 15 und 16, der Fig. 17 mit 18 und 19, der Fig. 20 mit 21 und 22, der Fig. 23 mit 24 und 25, der Fig. 27 mit 26, der Fig. 30 mit 31 und der Fig. 32 mit 33 sofort überzeugen. Eine genaue Maßangabe ist indessen in den meisten Fällen nicht möglich, da die Radiumlarven gewöhnlich zu einem Halbring stark zusammengekrümmt sind, so dass Kopf- und Schwanzende sich fast berühren (Fig. 12, 13, 18, 29). Genaue Längenmaße lassen sich daher nur von den wenigen Larven nehmen, die ganz gerade gestreckt sind. Es kann dies direkt an den auf Taf. I zusammengestellten Figuren geschehen, da immer eine Radiumlarve und ihre Kontrolle gleichzeitig in demselben Uhrschälchen auf eine Platte photographiert worden sind. Ihre Vergrösserung ist daher absolut dieselbe.

Beifolgende Tabelle gibt die Maße von vier Fällen:

Radiumlarve	Längsdurchmesser	Kontrolle	Längsdurchmesser
E (Fig. 32) Alter 17 Tage	39 mm	Fig. 33	66 mm
D^4 („ 22) „ 20 „	50 mm	„ 20	66 mm
D^6 („ 26) „ 27 „	56 mm	„ 27	77 mm
T.Sa^3(„ 30) „ 27 „	58 mm	„ 31	82 mm

Im Durchschnittswert sind daher die Radiumlarven um ein Viertel bis ein Drittel kürzer als die normalen, gleichalterigen Tiere.

2. Maße einzelner Organe.

Ähnliche Proportionen ergeben sich beim Vergleich einzelner Organe. Am geeignetsten hierfür sind der Kopf, das Hirn- und Rückenmarksrohr, das Auge mit der Linse, die Muskelsegmente. Bei den in Fig. 4 und 5 (Taf. III) abgebildeten Frontalschnitten durch den Kopf von zwei Larven im Alter von 24 Tagen tritt dies schon in mehreren Richtungen hervor. So beträgt der Längsdurchmesser von der Mitte der Nasengegend bis zur vorderen Fläche der Kiemenhöhle in Fig. 4, dem Schnitt durch die Radiumlarve, nur 55 mm, in Fig. 5 dagegen 65 mm. Der Querdurchmesser des Zwischenhirns zwischen den Augenblasen gemessen liefert die Zahlen 13 und 18 mm. Noch deutlicher zeigt sich der Unterschied an den beiden Augen; hier 21, dort 28 mm

Querdurchmesser. Die Linse als ein nahezu kugeliger Körper misst 5, resp. 7,5 mm im Querdurchmesser.

Von den Muskelsegmenten derselben Larven wurde schon früher bei Besprechung der Kerne erwähnt, dass in der Gegend des Schultergürtels etwa sieben Segmente der Kontrolle den gleichen Raum wie acht Segmente der Radiumlarve einnehmen.

Lehrreich für die verschiedenartigen Grössenverhältnisse sind auch die Querschnittsbilder durch die Orbitalregion von 19 Tage alten Larven, wie sie in den Fig. 1—3 (Taf. III) bei gleicher Vergrösserung wiedergegeben sind. Bei der Kontrolle (Fig. 2) beträgt der Abstand der linken von der rechten Hornhautoberfläche 56 mm, der Durchmesser des rechten Auges von oben nach unten gemessen 19 mm, der Querdurchmesser des Hirns ebenfalls 19 mm; für die entsprechenden Messungen bei der Radiumlarve (Fig. 1) ergeben sich die Werte 41 mm, 14 mm und 15 mm. Noch kleiner fällt der Querdurchmesser in der Augengegend und der Umfang des Augapfels bei der 18 Tage alten Tritonlarve aus, deren Eier mit bestrahlten Samenfäden von Salamandra maculosa befruchtet worden waren. Sehr auffällig ist endlich auch die verschiedene Grösse der Linsen, wenn wir Fig. 2 mit den Fig. 1 und 3 vergleichen.

Alles in allem genommen, kann man auch für viele Organe der Radiumlarven sagen, dass sie in ihren Ausmessungen ein Viertel bis ein Drittel kleiner als bei den Kontrollarven sind.

d) Abnorme Befunde bei mikroskopischer Untersuchung der Organe der parthenogenetisch entwickelten Tritonlarven.

1. Allgemeines Krankheitsbild.

Bei unseren parthenogenetischen Tritonlarven, die durch einen experimentellen Eingriff in eigenartiger Weise gewonnen worden sind, werden alle Organe wie bei den Kontrolltieren, aber gewöhnlich in etwas geringerer Grösse angelegt. Ferner sind sie im grossen und ganzen normaler als bei den in entsprechender Weise entstandenen Froschlarven gebildet, deren pathologische Befunde ich in meiner Abhandlung „Die Radiumkrankheit tierischer Keimzellen“ (Seite 97—116) eingehender beschrieben habe. Doch kann man immerhin auch hier bei Durchmusterung von Schnittserien durch zahlreiche Larven auf diesen und jenen abnormen Befund stossen, der durch die Besamung mit einem bestrahlten

Spermium und durch die hiermit zusammenhängende Veränderung der Kerne (reduzierte Chromosomenzahl, verändertes Kern- und Zellenvolumen) in unbekannter Weise verursacht worden sein muss.

Auch die Tritonlarven unserer Experimente sind bald mehr bald minder geschwächt und befinden sich in einem krankhaften Zustand. Sehr selten schwimmt ein Exemplar nach dem Ausschlüpfen, wie es alle Kontrolltiere tun, mit hurtigen Bewegungen im Wasser umher, vielmehr gleichen sie in ihrem physiologischen Verhalten den Radiumlarven unserer entsprechenden Experimente am Froschei; sie bleiben meist unbeweglich stunden- und tagelang auf dem Boden des Gefässes liegen, geraten nur bei Berührung mit der Nadel in konvulsivische Zuckungen, führen auch eventuell einige Schwimmbewegungen aus und drehen sich bei diesen meist im Kreise herum.

Eine andere, zwar nicht immer, aber doch häufiger zu beobachtende, krankhafte Erscheinung ist die Ausbildung von Wassersucht. Der Leib ist von der Herzgegend an bis zur Mündung des Enddarms aufgetrieben. So werden unsere Larven, während sie auf der einen Seite viel kürzer sind als die Kontrollen, auf der anderen Seite viel dicker als dieselben. Gewöhnlich ist hierbei das vom Flossensaum umgebene Schwanzende nach einer Seite umgeschlagen, so dass die Larve die Form eines Halbrings annimmt. Man vergleiche in diesen beiden Beziehungen die Fig. 12 und 13 mit 11, Fig. 18 und 19 mit 17, Fig. 15 mit 14, Fig. 21 und 22 mit 20. Bei höheren Graden der Wassersucht gehen Kopf und Vorderrumpf ohne Grenze ineinander über und ist die Herzgegend nach unten blasig vorgewölbt. Besonders bei den in Fig. 15, 21 und 22 abgebildeten Larven ist dieser Zustand stärker ausgeprägt. Indessen erreicht bei den Tritonlarven die Wassersucht nie jenen Grad wie bei den ausgeschlüpften Kaulquappen, bei denen ja zuweilen der kolossal aufgetriebene Bauch sich einem Ballon und einer Tonne vergleichen liess und ganz dünne, durchsichtige Wandungen erhalten hatte. Auch sind bei Triton manche parthenogenetische Zwerglarven fast ganz frei von Wassersucht, wie die in den Fig. 33, 31, 26 und 24 abgebildeten Exemplare.

Einen Querschnitt durch den stark aufgetriebenen Bauch in der Herzgegend am Übergang zum Kopf zeigt uns Fig. 7

(Taf. II). Sie gehört einer 18 Tage alten Tritonlarve (Fig. 29, Taf. I) an, entstanden aus einem Ei, das mit stark bestrahlten Salamanderspermien besamt worden war.

Zur Vervollständigung des Krankheitsbildes gehört ferner die meist kümmerliche Entwicklung der Kiemenfäden, und diese ist wohl wieder durch die mangelhafte Entwicklung des Herzens und die schwache Herzaktion verursacht worden.

2. Hypertrophie des Gallertgewebes.

Nicht immer, aber öfters stösst der Beobachter bei der Durchmusterung der Serienschnitte auf Larven, bei welchen das Gallertgewebe sich übermässig entwickelt hat und dann auch zur Auftreibung der Rumpfwandung wesentlich mit beiträgt. Im Zusammenhang hiermit stehen auffällige Veränderungen der Muskelsegmente. Bei normalen, drei bis vier Wochen alten Larven liegen die quergestreiften Muskelfasern zu beiden Seiten von Rückenmark und Chorda als kompakte Massen dichtgedrängt zusammen und sind nur durch kaum sichtbare Hüllen von Grundsubstanzgewebe voneinander getrennt; vom Rücken her schieben sie sich dann weiter ventralwärts in die Bauchwand im Zusammenhang hinein. Bei unseren Larven mit abnormer, pathologischer Gallertentwicklung dagegen liegen die Muskelfasern weit auseinander, teils einzeln, teils zu kleinen Bündelchen vereint, getrennt und eingebettet in das übermässig gewucherte Gallertgewebe. Infolgedessen bietet ein Vergleich der Querschnitte, die durch den Rumpf von Kontrolltieren und von Larven mit Hypertrophie der Gallerte geführt worden sind, ganz überraschende Unterschiede dar.

3. Missbildungen am Zentralnervensystem.

Schon in meiner Schrift über die Radiumkrankheit tierischer Keimzellen habe ich bei Besprechung des Nervensystems eine „typische Missbildung“ beschrieben, „die bei der Betrachtung der Schnittserien in mehreren Fällen aufgefunden wurde“. „Es handelt sich“, wie es dort heisst, „um eine vollkommene Trennung des Nervenrohrs in zwei Hälften. Sie wird meist in der Gegend der Medulla oblongata oder etwas nach hinten von ihr bald in grösserer, bald in kleinerer Ausdehnung vorgefunden und ist als der Rest einer in Rückbildung begriffenen Spina bifida zu beurteilen, die auf jüngeren Stadien hier bestanden hat.“ An vier Beispielen,

die einige Abweichungen voneinander darbieten, wird die Missbildung besprochen und durch vier Figuren (l. c. Textfig. 22 a und b auf Seite 105, ferner Fig. 4, 3 und 2 auf Taf. VI) erläutert. Der in Fig. 2 und 3 dargestellte Befund hat am meisten Ähnlichkeit mit dem auch bei Triton jetzt wieder beobachteten Verhalten. Von ihm heisst es in meiner älteren Abhandlung: „In Fig. 3 ist die Medulla oblongata in grosser Ausdehnung von vorn bis in das vordere Bereich des Rückenmarks in zwei Hälften gespalten; jede von ihnen ist mit einer Höhle (hv) versehen, in der grosse und kleine ausgestossene Zellen liegen. Dem vorgerückteren Alter (der achttägigen Larve) entsprechend ist schon ein dicker Schleier von Neurofibrillen (nf) entstanden. Zwischen beide Hälften schiebt sich eine Scheidewand mit gelben und schwarzen Pigmentzellen und endothelialen Blutgefässröhren." Auch im zweiten Fall (Fig. 4) wird der vierte Ventrikel durch eine Scheidewand in zwei grosse Höhlen getrennt, von denen die linke eine Anzahl isolierter Zellkugeln einschliesst. In der Umgebung der Medulla sind auffallend grosse, sinusartige Gefässräume (gf) anzutreffen. Bei Durchsicht der Schnittserie nach hinten wird die Trennung in zwei Hälften immer deutlicher und vollständiger und wie in Fig. 3 auch durch eine Scheidewand von pigmentiertem Mesenchym bewirkt (l. c. S. 104—106).

Einen neuen ähnlichen Fall habe ich auch in der diesjährigen Reihe von Experimenten zu beobachten Gelegenheit gehabt. Ich stiess auf ihn bei Durchmusterung der Schnittserie einer 18 Tage alten Tritonlarve, die sich aus einem Ei entwickelt hatte, das mit stark bestrahlten Spermien von Salamandra maculata besamt worden war. Während die Medulla oblongata in ihrer vorderen Hälfte zwischen den beiden Ohrbläschen noch einfach ist und einen geräumigen vierten Ventrikel einschliesst, beginnt sie sich plötzlich nach hinten in zwei Hälften zu trennen. Die Decke, die normalerweise aus einer einfachen Lage von Ependymzellen bestehen sollte, beginnt sich zu verdicken; dabei wird sie nicht nur aus mehreren Zellenlagen zusammengesetzt, sondern hat auch an ihrer äusseren Oberfläche eine dünne Lage von Neurofibrillen differenziert. Was aber noch merkwürdiger ist, es macht sich auf mehreren Querschnitten an ihr eine Einfaltung bemerkbar, die in der Medianebene sich von oben in den vierten Ventrikel herabsenkt. Dieser nimmt, wie Fig. 4 (Taf. II) lehrt, dadurch eine quergestellte

Achterfigur an. Bei weiterer Verfolgung der Schnittserie hat die Falte bald den Boden des vierten Ventrikels erreicht und ist mit ihm verschmolzen (Fig. 5). Die Medulla oblongata erhält daher jetzt zwei Höhlen, die durch eine breite Scheidewand von embryonaler Nervensubstanz getrennt sind. Die Nervensubstanz besteht einerseits aus Neuroblasten, die nach den beiden Ventrikelhöhlen zu liegen, andererseits aus Neurofibrillen, die sich von oben und unten als feines Septum zwischen die embryonalen Zellen hineinsenken und sie in zwei die Ventrikelhöhlen begrenzende Schichten trennen (Fig. 5).

Die so in der Medulla beginnende Sonderung in zwei Hälften hat sich auch auf den Anfang des Rückenmarks fortgesetzt. Die Fig. 6 und 7 (Taf. II) geben hierüber weiteren Aufschluss. In Fig. 6 sind noch zwei zentrale Hohlräume im Querschnittsbild zu sehen, haben aber an Grösse im Verhältnis zu Fig. 5 erheblich abgenommen. Namentlich auf der linken Seite ist nur noch eine Spur von einer Höhlung vorhanden. Der Querschnitt hat daher jetzt mehr eine kompakte Beschaffenheit angenommen. Die Trennung in zwei Hälften findet abgesehen von dem doppelten, wenn auch einerseits sehr verkümmerten Zentralkanal noch einen Ausdruck in einer medianen Scheidewand von Neurofibrillen, die hier noch besser als in Fig. 5 entwickelt ist.

Noch weiter abwärts im Halsmark sind auch die letzten Reste von Hohlräumen ganz geschwunden (Fig. 7). Das Querschnittsbild ist ganz kompakt geworden und setzt sich nur aus embryonalen Neuroblasten und Nervenfibrillen zusammen. Diese bilden erstens eine an der Oberfläche, namentlich ventralwärts, differenzierte dickere Lage und zweitens eine breite, in vertikaler Richtung verlaufende, mediane Schicht, die eine Halbierung in eine linke und eine rechte Hälfte bewirkt.

Bei der Obliteration des doppelten Zentralkanals ist in dieser Gegend des Rückenmarks die vertikale Scheidewand von Neurofibrillen das einzige Merkmal, welches noch auf die Verdoppelung des Nervenrohres hindeutet, deren Entstehung sich in der hinteren Hälfte der Medulla oblongata in so deutlicher Weise verfolgen liess. Bei den vier in meiner älteren Arbeit beschriebenen Fällen war die Verdoppelung besser als hier ausgeprägt, insofern sich zwischen beide Hälften noch eine besondere schmale Mesenchymschicht schob. Von einer solchen aber ist hier keine Spur vorhanden.

4. Das Vorkommen embryonaler Geschwülste im Gehirn-, in Rückenmark und Retina.

Eine zweite am Zentralnervensystem zu beobachtende Abnormität ist die Entwicklung embryonaler Tumoren. Auf diese interessanten Befunde werde ich hier nur ganz kurz eingehen, da ich sie zum Gegenstand einer besonderen Mitteilung machen und anderen Orts veröffentlichen werde. Es handelt sich um eine Geschwulstbildung, die von der innersten Zellenlage der Ventrikel oder des Zentralkanals ihren Ausgang nimmt und daher wohl als Ependymom bezeichnet werden kann. Sie wurde in zwei Fällen beobachtet, erstens bei der 4 Wochen alten Tritonlarve C^3 und zweitens bei den 19 Tage alten Larven D^3. Beidesmal waren die Eier mit Samenfäden von Triton nach sehr intensiver Bestrahlung befruchtet worden; denn im einen Fall wurden die Spermien 3, im anderen 2 Stunden zwischen zwei starken Mesothoriumpräparaten bestrahlt. Beide Fälle unterscheiden sich von einander, so dass sie uns gewissermassen zwei Entwicklungsstadien der Geschwulstbildung vor Augen führen, D^3 den allerersten Anfang, C^3 ein schon weit vorgeschrittenes Stadium.

Aus dem schon angeführten Grund beschränke ich mich auf eine kurze Zusammenstellung einiger charakteristischer und auch für die weitere Beurteilung wichtiger Momente:

Einmal ist hervorzuheben, dass die Geschwulstbildung erst beginnt, nachdem sich Hirn und Rückenmark in üblicher Weise entwickelt und schon die ersten Stadien der Sonderung in eine innere Lage von Neuroblasten und eine ziemlich dicke Schicht von Nervenfibrillen, den Randschleier, durchaus normal zurückgelegt haben. Wir finden daher bei den Larven C^3 und D^3 sowohl an Schnitten durch das Gehirn wie an Querschnitten durch das Rückenmark dieselben Bilder wie bei gesunden Kontrollarven (Fig. 2, Taf. III), nach aussen eine Schicht von Neurofibrillen, deren Dicke dem Alter der Larve entspricht, nach innen von ihr regelmässig in vielen Lagen übereinander geordnete Neuroblasten mit ovalen Kernen von gleicher Grösse (Fig. 10, Taf. II). Es muss hieraus geschlossen werden, dass das Neuralrohr nach seiner Abfaltung vom äusseren Keimblatt sich längere Zeit durchaus, wie es der Norm entspricht, weiter entwickelt und differenziert hat; denn es hat zuerst ein ganz gesundes, embryonales Nervengewebe geliefert.

Die Geschwulstbildung — und das ist der zweite beachtenswerte Punkt — setzt daher plötzlich nach anscheinend normalem Beginn der Entwicklung später ein. Hierbei zeigt sie sich auf das deutlichste an die innerste Zellenschicht gebunden, welche die Ventrikel und den Zentralkanal begrenzt. Auch bei der normalen Entwicklung spielt diese eine wichtige Rolle. Wie schon oft beschrieben ist, geht von ihr allein die Vermehrung des Zellenmaterials aus. Nur in der nächsten Nachbarschaft der zentralen Höhlen werden Mitosen oft in sehr reicher Menge vorgefunden, während sie in der dicken Zellenlage nach der Neurofibrillenschicht zu, im Bereich des Neuroblasten, ganz fehlen. An der Innenfläche von Hirn- und Rückenmark liegen also embryonale, einer lebhafteren Vermehrung fähige Zellen, und diese sind es, welche zum Ausgangspunkt der Geschwulstbildung werden, nachdem sie sich vorher in normalen Entwicklungsbahnen bewegt haben.

Der an ihnen sich abspielende, pathologische Prozess lässt sich in dieser vorläufigen Mitteilung in folgende Sätze kurz zusammenfassen:

1. Einzelne Kerne nehmen im ruhenden Zustande eventuell infolge vorausgegangener Verschmelzungsprozesse oder pluripolarer Mitosen ohne nachfolgende Zellteilung an Grösse zu. Sie erreichen den doppelten, den dreifachen Durchmesser und mehr. Ihr Zelleib wird gleichzeitig protoplasmareicher.

2. Die Kernteilungsfiguren haben an Zahl ausserordentlich zugenommen, sie erreichen viel grössere Dimensionen, als es bei normalen Larven der Fall ist, und scheinen viel chromatinreicher zu sein. Die Chromosomen sind allem Anschein nach stark vermehrt, doch wurde auf eine Zählung derselben verzichtet, da sie bei ihrer gedrängten Aneinanderlagerung nicht durchführbar zu sein schien.

3. Die Zell- und Kernvermehrung ist ohne Frage in ein beschleunigtes Tempo geraten und hat eine Nachkommenschaft geliefert, die sich der normalen Organisation von Gehirn und Rückenmark nicht mehr einfügt und einer ungeordneten Vermehrungsweise unterliegt. Anstatt sich der bereits bestehenden Schicht normaler Neuroblasten anzufügen, wachsen die durch Wucherung der Ependymzellen vermehrten Zellen von mehreren Stellen aus in den Ventrikelhohlraum und in den Zentralkanal hinein (Fig. 10, Taf. II) und verbinden sich hier zu einer un-

geordneten Masse locker zusammengefügter Zellen, zu einer Geschwulst, welche ich auf Grund ihrer Genese als embryonales Ependymom zu bezeichnen vorschlage.

4. In der Geschwulst beobachtet man noch eine sehr lebhafte Zellvermehrung. Oft grenzt Mitose an Mitose; von ihnen erreichen viele eine solche Grösse, dass man geradezu von Riesenmitosen sprechen kann. Auch die ruhenden Kerne zeichnen sich durch variable Grösse, einige von ihnen durch einen Riesenumfang aus. Ab und zu trifft man in der Geschwulst auch pyknotische Kerne an, ferner Ablagerung schwärzlicher Pigmentkörnchen im Protoplasma einzelner Zellen.

Die Geschwulst geht von den verschiedensten Stellen an der Innenwand des Nervenrohres aus. Bei Larve C^3 findet sie sich im dritten Ventrikel, in der Medulla oblongata, in einer langen Strecke des Zentralkanals. Im vorderen Teil der Rautengrube stellt sie einen gestielten Lappen dar, der von der linken Seite am Boden entspringt und hauptsächlich auf diese Hälfte beschränkt bleibt (Fig. 10, Taf. II). Sie nimmt daher nur einen Teil der Ventrikelhöhle ein, die im übrigen auch durch seröse Flüssigkeit stark ausgedehnt ist. Im hinteren Teil der Medulla oblongata (Fig. 11, Taf. II) ist der Ventrikel vollständig von der Geschwulstmasse ausgefüllt, die bis an die Epidermis heranreicht und sie zu einem Hügel emporgehoben hat.

5. Ein Anfangsstadium der Geschwulstbildung konnte bei der nur 19 Tage alten Larve D^3 beobachtet werden. Bei ihr trat gleichzeitig auch die Bildung von Zellen mit pyknotischen Kernen mehr in den Vordergrund.

6. Als letzter Punkt von besonderem Interesse mag noch kurz erwähnt sein, dass der krankhafte Prozess auch auf die Retina des Auges übergreift. Die Vorbedingung hierzu ist ja schon dadurch gegeben, dass die primäre Augenblase als Ausstülpung der Seitenwand des primären Vorderhirnbläschens entsteht und daher genetisch einem Teil der Hirnwand entspricht. Auch für das Auge lässt sich zeigen, dass seine Entwicklung anfangs in normaler Weise begonnen hat. Denn nach der Umwandlung der primären Blase zum Becher hat sich das eingestülpte, zur Retina werdende Blatt bei seiner Entwicklung in normalen Bahnen bewegt. Es ist aus vielen kleinkernigen Neuroblasten zusammengesetzt und zeigt an unserer Larve C^3 bereits

schon eine Differenzierung in die bekannten Retinaschichten, indem feine Zwischenstreifen von Neurofibrillen sich gebildet haben und eine Sonderung in einzelne Körnerschichten anzubahnen beginnen. Aus dem äusseren Blatt des Bechers ist bereits durch Ablagerung von Melaninkörnchen ein Tapetum nigrum entstanden. Nur von der am spätesten zur Ausbildung gelangenden Stäbchen- und Zapfenschicht fehlt noch jede Spur. Auch scheint es an unserem Objekt nach dem sich darbietenden Befund überhaupt in Frage gestellt, ob noch eine Möglichkeit für ihre spätere Bildung gegeben ist. Denn die an das Pigmentepithel angrenzende Zellschicht, welche ja ihrer Lage und Genese nach der innersten Zellenlage der embryonalen Hirnwand entspricht, hat genau dieselben Veränderungen wie dort erfahren. Zellen mit Riesenkernen sind entstanden, zahlreiche Mitosen von auffälliger Grösse und offenbar vermehrter Chromosomenzahl oft eine neben der anderen, werden beobachtet und unterscheiden sich von den Zellen mit kleinen Kernen der Körnerschichten, die sich bereits auf den vorausgehenden Entwicklungsstadien normal gebildet hatten. Auch einzelne Zellen mit pyknotischen Kernen werden gefunden und ferner solche, in denen kleine Haufen schwärzlicher Pigmentkörnchen abgelagert sind.

Alles in allem kann man daher auch von der Augenanlage sagen, dass in ihrer innersten Zellschicht, in ähnlicher Weise wie in der Wand des embryonalen Nervenrohrs, ein Wucherungsprozess eingetreten ist, welcher nicht nur die Ausbildung einer Stäbchen- und Zapfenschicht unmöglich macht, sondern bei weiterem Fortschreiten auch auf die bereits gebildeten Retinaschichten und dadurch auf das ganze Auge zerstörend einwirken muss.

IV. Teil.

Zusammenfassung und Besprechung der wichtigsten Versuchsergebnisse.

1. Direkte Beeinflussung und Schädigung der Kernsubstanzen durch Radiumstrahlen.

Durch die hier mitgeteilten Mesothoriumexperimente ist eines der Hauptergebnisse, welches ich in meiner Abhandlung über die Radiumkrankheit tierischer Keimzellen gewonnen hatte, noch weiter bestätigt worden. In den β- und γ-Strahlen von Radium- und Mesothoriumpräparaten besitzen wir ein Reagens, das auf

die Kernsubstanzen der lebenden Zelle Wirkungen ausübt, die sich auf das feinste abstufen lassen in einer Weise, wie es von keiner anderen Substanz bis jetzt bekannt geworden ist. Namentlich das Chromatin wird schon durch kleinste Dosen radioaktiver Strahlung in seinen Lebenseigenschaften verändert und durch grössere Dosen so geschädigt, dass es die Fähigkeit zu wachsen und sich durch Mitose in der gesetzmässigen Weise zu vermehren verliert, dass es einem allmählichen Zerfall unterliegt und in denselben auch den es einschliessenden Zellkörper hineinzieht.

Ich stelle die in meinem Institut gewonnenen, wichtigeren Tatsachen, auf die sich diese Anschauung gründet, kurz zusammen:

1. Befruchtete Ascariseier, die mehrere Stunden mit einem Radiumpräparat bestrahlt werden, liefern pathologische Kernteilungsfiguren, in denen die bekannten chromatischen Schleifen durch unregelmässige Haufen von Chromatinkörnchen vertreten werden; sie teilen sich in sehr verlangsamter Weise und beginnen schliesslich unter Karyolyse zu zerfallen (Paula Hertwig).

2. Durch intensive, über mehrere Stunden fortgesetzte Bestrahlung von Samenfäden des Seeigels kann bewirkt werden, dass bei ihrer Verwendung zur Befruchtung zwar noch ein Samenkern im Ei entsteht und den Eikern zur Umwandlung in eine Spindel anregt, selbst aber die Fähigkeit, normale Chromosomen zu bilden, verloren hat und auf diese Weise aus dem Entwicklungsprozess teilweise oder ganz, früher oder später, je nach dem Grad der bei ihm eingetretenen Schädigung wieder ausgeschaltet wird (Günther Hertwig).

3. Eine Ausschaltung des Samenkerns, der von intensiv bestrahlten Samenfäden abstammt, ist schon während der ersten und zweiten Teilung auch beim Froschei (Paula Hertwig) und beim Forellenei (Oppermann) auf Schnittpräparaten in einwandfreier Weise beobachtet worden.

4. Für die Ausschaltung des radiumbestrahlten, entwicklungsunfähig gewordenen Samenchromatins aus dem Entwicklungsprozess spricht nicht minder überzeugend die bei Radiumlarven von Triton über jeden Zweifel festgestellte Tatsache, dass ihre somatischen Kerne nur noch die halbe Chromosomenzahl wie reduzierte Kerne besitzen. Da die männliche Chromosomengarnitur infolge der Bestrahlung in der Entwicklung ausgefallen ist, findet sich in den Somakernen nur noch die weibliche Garnitur (Oskar Hertwig).

5. Mit der im vierten Satz erwähnten Tatsache steht in gutem Einklang der bei Frosch-, Kröten-, Triton- und Forellenlarven in übereinstimmender Weise gewonnene Befund, dass nach maximaler Bestrahlung des zur Befruchtung verwandten Samens die Kerne der verschiedensten Zellen auffällig kleiner als bei gleichalterigen Kontrollarven sind und dass entweder ihre Oberflächen oder ihre Volumina sich zu den Vergleichsobjekten wie 1:2 verhalten. Denn es lässt sich aus diesem annähernd auf die Hälfte herabgesetzten Volumen der Kerne der Schluss ziehen, der durch mehrfache Erfahrungen wohl begründet ist, dass auch die Chromosomenzahl der Kerne eine haploide ist (Oskar Hertwig, Günther Hertwig, Oppermann).

6. Die durch cytologische Forschung gewonnenen Ergebnisse bieten uns die Möglichkeit dar, eine physiologisch höchst merkwürdige und auf den ersten Blick völlig rätselhafte Tatsache zu erklären, die Tatsache nämlich, dass Eier, die mit artfremden Spermien besamt worden sind, und an den Folgen dieser disharmonischen Idioplasmaverbindung auf dem Keimblasenstadium zugrunde gehen, von dem Zerfall verschont bleiben und zur Larvenentwicklung befähigt werden, wenn die artfremden Spermien vor ihrer Verwendung intensiv bis zum Maximum bestrahlt worden sind. Das Rätsel löst sich durch die einfache Überlegung, dass durch die Schädigung des bestrahlten Samenchromatins, wenn auch der Samenfaden noch in das Ei eindringt und entwicklungserregend wirkt, doch das Zustandekommen einer disharmonischen Idioplasmaverbindung mit ihren schädlichen Folgen verhütet wird. Durch Ausschaltung des Radiumchromatins ist eine parthenogenetische Entwicklung des Eies angebahnt worden. Unter diesen Umständen hat die Bestrahlung artfremden Samens zwar auf diesen selbst zerstörend, dagegen auf die Entwicklung des mit ihm besamten Eies förderlich gewirkt, ähnlich wie ein Arzneimittel, durch welches eine in den lebenden Körper gebrachte giftige Substanz wieder entgiftet wird.

Damit sind neue Beweise für die Unrichtigkeit der von Schwarz aufgestellten, von Werner, Schaper, Exner u. a. befürworteten Lecithinhypothese in so reicher Zahl erbracht, dass sie wohl jetzt als definitiv erledigt gelten kann. Fügen sich doch zu diesen biologischen Einwänden auch solche von chemischer Seite hinzu. Denn wie in dem Handbuch der Radiumbiologie

Neuberg bemerkt, hat die Lecithinhypothese auch einer Kritik auf chemischer Basis nicht Stand gehalten. Neuberg „misst Experimenten mit einem so von selbst zersetzlichen Körper wie Lecithin wenig Wert bei, wenn mit dem Auftreten von Zersetzungsprodukten der Nachweis der Radiumwirkung geführt werden soll“.

Die Unhaltbarkeit der Lecithinhypothese musste hier gleichwohl noch einmal nachgewiesen werden, da manche Forscher noch immer an ihr festhalten und unter ihrem Einfluss bestimmt werden. Zerfallsprodukte des Lecithins, wie Cholin, als Ersatz der Radiumstrahlen bei der Geschwulsttherapie zu verwenden. So berufen sich Czerny und Caan in ihrer eben erschienenen Abhandlung über die Radiumwirkung bei Karzinomen und Sarkomen auf die Lecithinhypothese und bezeichnen sie als die Vorstellung, die man sich nach den neueren Forschungen über das Zustandekommen der Radiumwirkung auf die Körperzellen gebildet hat. Denn durch die Untersuchungen von Schwarz, Werner etc. sei gezeigt worden, „dass die Strahlen, insbesondere die α-Strahlen des Radiums, imstande sind, Lipoide in vitro wie auch im Hühnerei zu zerstören“. „Von den Zersetzungsprodukten des Lecithins sei es aber besonders das Cholin, welches als Base wie auch als Salz in Verbindung mit schwachen Säuren imstande sei, den Komplex der biologischen Strahlenwirkung nachzuahmen (Imitation der Strahlenwirkung nach Werner).“

Von dieser Grundlage ausgehend, nehmen Czerny und Caan an, „dass die Strahlen an verschiedenen Punkten der Zelle angreifen, an den Lipoiden sowohl wie auch an den Fermenten, vielleicht auch noch andere uns bisher unbekannte Primärläsionen verursachen“, und sie fügen hinzu: „Letztere dürften insbesondere nach schwachen Bestrahlungen an und für sich sehr geringfügig sein, stehen aber zueinander im Verhältnis eines Circulus vitiosus, indem z. B. Zersetzungsprodukte der Lipoide die Zellen angreifen und die Autolyse fördern, während andererseits die Auslösung der letzteren durch Beeinflussung der autolytischen Fermente die Lipoidzersetzung steigert. Auf diese Weise kann man sich erklären, dass gerade nach schwachen Bestrahlungen erst nach langer Latenzzeit die Schädigung an den Zellen so stark wird, dass sie deutlich in Erscheinung tritt.“

Die Wirkungen der Radiumtherapie bei Geschwülsten haben nach unserer Ansicht ebensowenig wie die Wirkungen der

β-Strahlen auf die Keimzellen irgend etwas mit der Zersetzung von Lecithin und Lipoiden zu tun, sondern sind auf biologischem Gebiete zu suchen, auf welchem die direkte Schädigung der Kernsubstanzen auf experimentellem Wege mit aller Sicherheit nachgewiesen worden ist.

2. Die Entwicklungskurve, hervorgerufen durch verschieden intensive Bestrahlung der Keimzellen.

Die an den Keimzellen von Triton angestellten Mesothoriumexperimente haben einen Parallelfall zu der Versuchsreihe geliefert, deren Gegenstand früher das Froschei gebildet hatte. Zwar ist diesmal die Zahl der Versuche, besonders derjenigen mit schwachen Präparaten und kurzer Bestrahlungsdauer, eine viel geringere geblieben, aber sie scheint uns schon vollkommen zu genügen, um auch für Triton die Ergebnisse in einer Kurve mit einem absteigenden und einem aufsteigenden Schenkel darzustellen, ferner mit einem Tiefpunkt, in welchem der eine in den anderen Schenkel umbiegt. In der Tat ist bei Bestrahlung der Samenfäden während 5 Minuten die Entwicklung der mit ihnen befruchteten Eier eine bessere, als wenn die Bestrahlung auf 15 Minuten ausgedehnt wird. Wir befinden uns auf dem absteigenden Teil der Kurve. Ihr Tiefpunkt ist wahrscheinlich bei 15 Minuten Bestrahlung erreicht, da die Eier schon als Maulbeerkugel oder Keimblase absterben und zerfallen. Wer noch günstigere Ergebnisse in der Entwicklung der Eier als bei der Bestrahlung von 5 Minuten erhalten will, wird mit noch schwächeren Radiumpräparaten als den benutzten arbeiten müssen. Ich verwandte solche nicht, da ich auf diesen Teil der Experimente keinen besonderen Wert legte und da Zeit gespart werden musste.

Der bei maximaler Bestrahlung der Samenfäden erzielte aufsteigende Teil der Kurve liefert dann wieder 3—4 Wochen alte Larven, die im ganzen besser ausgebildet sind als die entsprechenden Kaulquappen, aber ebenso wie diese eine Reihe ähnlicher pathologischer Erscheinungen und krankhafte Veränderungen darbieten (Zwergwuchs, Neigung zu Bauchwassersucht, zu Missbildungen im Bereich des Zentralnervensystems und des Auges, zu embryonalen Geschwülsten).

Der vorliegende Parallelversuch hat uns aber zugleich einen bedeutenden Schritt in der Erklärung der Erscheinungen vorwärts

geführt, und somit das Ziel erreicht, welches ich mir bei seiner Ausführung gesetzt hatte. Es konnte der bestimmte Nachweis geführt werden, dass der aufsteigende Teil der Kurve durch eine Ausschaltung des geschädigten Spermachromatins ermöglicht worden ist. Denn wie durch die mikroskopische Untersuchung der Kernteilungsfiguren somatischer Zellen von Radiumlarven gezeigt werden konnte, bestehen die Muttersterne anstatt aus 24 nur aus 12 Chromosomen. Die Chromosomenzahl ist also infolge des Radiumexperimentes eine reduzierte, aus einer diploiden ist sie eine haploide geworden. Die in meiner Radiumkrankheit tierischer Keimzellen und in den zwei Abhandlungen von Günther Hertwig gegebene Erklärung, dass die Entwicklung in der aufsteigenden Kurve auf einer experimentell hervorgerufenen Parthenogenese beruhe, hat dadurch ihre volle Bestätigung gefunden. Inzwischen ist auch für das Froschei selbst auf einem anderen Weg der tatsächliche Nachweis, dass der intensiv bestrahlte Samenkern entwicklungsunfähig wird, in einer soeben erschienenen Arbeit erbracht worden (Paula Hertwig, dieses Archiv, Bd. 81, Abt. II).

3. Die Bestrahlung der Samenfäden durch radiaktive Substanzen, ein Mittel, das tierische Ei zu experimenteller Parthenogenese zu veranlassen.

Unter den Naturforschern hat bis in die Neuzeit die Überzeugung vorgeherrscht, dass das Ei der Wirbeltiere zu selbständiger Entwicklung unfähig sei und immer erst einer Befruchtung bedürfe, um wieder entwicklungsfähig zu werden. Beim natürlichen Verlauf der Dinge wird ja auch Parthenogenese in keiner einzigen Abteilung der Wirbeltiere beobachtet; sie zeigt sich nur auf eine verhältnismässig geringe Anzahl von Wirbellosen beschränkt und kann hier sogar zu einer wichtigen Einrichtung im Leben der Art werden.

Jetzt lässt sich wohl mit Erfolg die Behauptung verteidigen, dass jedes tierische Ei die Fähigkeit zu selbständiger Entwicklung, seiner Organisation nach, in sich trägt, gleich wie die jugendliche Zelle sich durch Teilung zu vermehren befähigt ist. Dass beim normalen Verlauf der Dinge die Fähigkeit sich nicht äussern kann und daher, wie man sagt, latent bleibt, ist eine Folge uns unbekannter, im Ei gelegener Hemmungseinrichtungen. Diese sind das Mittel, dessen sich die Natur gleichsam als eines Kunstgriffs bedient, um

die parthenogenetische Entwicklung durch die geschlechtliche Zeugung zu ersetzen. Was die Natur durch Hemmungen zu verhüten sucht, kann der experimentierende Naturforscher auf Umwegen durch Beseitigung der Hemmungen erzwingen. In der Theorie erscheint es mir daher nicht im geringsten zweifelhaft, dass sich die Eier aller Wirbeltiere, also auch die Eier der Säugetiere und selbst des Menschen, zu parthenogenetischer Entwicklung durch Eingriffe werden bringen lassen

Fast gleichzeitig als Bataillon seine Methode erfand, durch Einstich mit feiner Platinnadel das Froschei zu künstlicher Parthenogenese anzuregen, entdeckten ich und mein Sohn in den gemeinsam begonnenen und im Archiv veröffentlichten Radiumexperimenten einen sehr abweichenden Weg, der viel sicherer und ungleich wirksamer ist und zu dem gleichen Ziel führt. Es ist dies die Besamung des Eies mit Spermien, die bei maximaler Bestrahlung zwar noch lebenskräftig genug zum Eindringen in das Ei geblieben sind, aber wegen ihrer hierbei erlittenen Schädigung bald wieder aus dem Entwicklungsprozess ausgeschaltet werden. So spielen die bestrahlten Samenfäden in unseren Experimenten nur die Rolle der Bataillonschen Platinnadel, sie beseitigen nur auf eine Weise, die dem natürlichen Verlauf genau entspricht, das der Entwicklung des Eies noch entgegenstehende Hemmnis. Da aber hiermit ihre Wirksamkeit infolge der Radiumbestrahlung erschöpft ist, da ihr geschädigtes und zur Vermehrung unfähig gewordenes Chromatin nicht mehr eine Verbindung mit dem Eikern (Amphimixis) eingehen kann, muss logischerweise die durch sie angeregte Entwicklung des Eies als eine parthenogenetische bezeichnet werden. Eine zweigeschlechtliche Zeugung liegt ja nicht vor, aus dem einfachen Grund, weil die väterliche Keimsubstanz an dem Zeugungsprodukt nicht teil nimmt.

Da unser Verfahren sich des Befruchtungsvorganges als eines natürlichen Mittels bedient, um durch Modifikation desselben Parthenogenese zu erzwingen, besteht zwischen ihm und der Methode von Bataillon in ihren Erfolgen ein erheblicher Unterschied. Während Bataillon von 10000 angestochenen Eiern von Rana fusca nur 120 Larven zum Ausschlüpfen aus den Gallerthüllen bringen konnte und während andere Forscher, die seitdem mit seiner Methode gearbeitet haben, auch nicht von günstigeren Ergebnissen berichten können, entwickeln sich nach unserer

Methode alle Eier, sofern ein radiumbestrahlter Samenfaden in sie eingedrungen ist, überaus gleichmässig zu Larven, die bis zum Ausschlüpfen gebracht werden können. Ein Absterben während der Furchung oder Gastrulation findet nicht statt. Während ferner die Methode von Bataillon sich nur bei einem beschränkten Kreis von Eiern mit Erfolg ausführen lässt, scheint unser Verfahren in allen den zahlreichen Fällen anwendbar, in denen eine künstliche Befruchtung gelingt. Es lässt daher eine sehr verbreitete Verwendung erwarten. Bis jetzt ist auch in meinem Institut das Verfahren schon bei einer grösseren Zahl von Tierarten, immer mit dem gleichen Erfolg, erprobt worden, bei den Eiern von Rana fusca, Rana esculenta, Bufo variabilis, Triton vulgaris, ferner bei zwei Teleostiern, bei der Forelle (Oppermann) und beim Stichling (Entzian).

Künstliche Befruchtung des Eies gelingt auch bei vielen Säugetieren, wie die über viele Jahre ausgedehnten und in grösstem Maßstab ausgeführten Versuche von Iwanow gelehrt haben. Daher hege ich keinen Zweifel, dass durch Bestrahlung des zur künstlichen Befruchtung verwandten Samens sich auch in diesen Fällen parthenogenetische Entwicklung von Säugetiereiern wird herbeiführen lassen.

Dass in den verschiedenen Klassen der Wirbellosen ein ausgedehntes Feld zur weiteren Erprobung der Methode und zum Studium der experimentellen Parthenogenese infolge Besamung des Eies mit bestrahlten Spermien vorliegt, ist wohl ebensowenig zu bezweifeln.

Beim Vergleich unserer Methode mit der von Bataillon geübten tritt uns noch ein bemerkenswerter Unterschied entgegen. Von den 120 Froschlarven, die aus den Gallerthüllen ausschlüpften, konnte Bataillon drei Stück bis zum Eintritt der Metamorphose am Leben erhalten. Ebenso brachte stud. Levy bei Versuchen, die im hiesigen Biologischen Institut ausgeführt wurden, unter vielen Larven, die aus angestochenen Froscheiern erhalten wurden, 2 Exemplare bis zur Metamorphose. Sie starben erst einige Wochen nach Vollendung derselben aus unbekannter Ursache, als Fröschchen, die hinter den Kontrolltieren an Grösse zurückgeblieben waren. Dagegen ist es in unseren Experimenten, wobei allerdings auch nicht mit einer entsprechend grossen Zahl von Eiern gearbeitet wurde, nicht gelungen, parthenogenetische Larven

bis zur Metamorphose zu bringen. Auch bieten dieselben, wie früher eingehender beschrieben worden ist, bald mehr bald minder verschiedenartige Krankheitssymptome und pathologische Veränderungen einzelner Organe dar. Ob dieses in ähnlicher Weise auch an den Larven, die durch Anstich des Eies gewonnen wurden, der Fall ist, lässt sich zurzeit nicht entscheiden, da genauere Untersuchungen hierüber von Bataillon nicht veröffentlicht worden sind. Daher muss auch die Frage noch ungeklärt bleiben, ob die Störungen in der Entwicklung der parthenogenetischen Radiumlarven schon allein als Begleiterscheinungen der Parthenogenese aufzufassen sind, oder ob dabei auch der Umstand eine Rolle spielt, dass die bestrahlte Substanz des Samenfadens, wenn sie auch nur ein ausserordentlich kleiner Fremdkörper ist, doch eine schädliche Wirkung in irgend einer Weise im Ei ausübt. Ein genaueres Studium der durch traumatische Parthenogenese entstandenen Larven und ein Vergleich mit den von mir schon genau beschriebenen pathologischen Befunden bei parthenogenetischen Radiumlarven würde über diese Frage wohl Aufklärung geben müssen.

4. Die falschen Bastarde.

In der botanischen Literatur findet sich die Bezeichnung faux hybrids oder falsche Bastarde. Sie wurde in einigen Fällen für Keimlinge gebraucht, die bei künstlicher Bestäubung der Eianlagen mit artfremdem Pollen erhalten wurden, aber trotzdem nur rein mütterliche Eigenschaften darboten. Auch in den von Günther Hertwig zuerst ausgeführten Kreuzungsexperimenten von Eiern der Kröte und des grünen Wasserfrosches, die mit intensiv bestrahlten Spermien von Rana fusca besamt wurden, und ebenso bei der von mir nach der gleichen Methode ausgeführten Kreuzung zwischen Triton ♀ und Salamandra mac. ♂ könnten die hierbei erzielten 3—5 Wochen alten Larven als falsche Bastarde bezeichnet werden. Denn insofern man Eier und Samen von zwei verschiedenen Species miteinander gekreuzt und dadurch auch Entwicklung der Eier hervorgerufen hat, könnte man von einer vollzogenen und auch geglückten Kreuzung reden. Man bleibt dann aber bei der Oberfläche der Erscheinungen stehen. Es gehört ein genaues Studium des Vorganges dazu, um zu erkennen, dass man in Wirklichkeit eine wahre Bastardierung gar nicht erzielt hat. Denn wenn auch der fremde Samenfaden in das Ei ein-

gedrungen ist, hat er doch an der Entwicklung desselben gar nicht teilnehmen können, da er infolge der erlittenen Radiumschädigung von vornherein zugrunde gegangen ist.

Das aus dem besamten Ei entstandene Produkt ist daher rein mütterlicher Herkunft. Da es keine lebensfähige Substanz vom Vater bekommen hat, kann es auch keine Eigenschaften von ihm ererbt haben. In Wirklichkeit handelt es sich also in den Kreuzungsexperimenten mit bestrahlten, artfremden Samenfäden um Fälle einer besonderen Art von künstlicher Parthenogenese.

Uns erscheint die Annahme eine wohl begründete zu sein, dass auch die faux hybrids der Botaniker nur eigenartige Fälle von Parthenogenese sind, die durch Fremdbestäubung angeregt worden sind.

Zum Schluss sei noch auf die Betrachtungen hingewiesen, die Günther Hertwig über dasselbe Thema in seiner Abhandlung: Parthenogenesis bei Wirbeltieren etc. in den Abschnitten 6 und 7 angestellt hat. Der Abschnitt 6 trägt die Überschrift: Die Entwicklung durch Radiumbestrahlung entkernter Kröteneier nach ihrer Befruchtung mit artfremdem Froschsamen. Der letzte Abschnitt 7 behandelt: Das Gesetz der Kurvenbildung bei Radium- und bei Kreuzungsexperimenten.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel I—III.

Tafel I.

Fig. 1—10. Eier und Embryonen aus einer Versuchsreihe, in welcher die Samenfäden 5 Minuten lang mit 5,3 mg reinem Radiumbromid bestrahlt wurden. Fig. 1—7 12 mal, Fig. 8—10 nur 8 mal vergr.

Fig. 1 und 2. Zwei Tritoneier, die am 5. Mai mit Samen, der 5 Minuten lang mit 5,3 mg reinem Radiumbromid bestrahlt worden ist, künstlich befruchtet und am 9. Mai abends auf dem Gastrulastadium eingelegt wurden. Konservierung in Zenker scher Flüssigkeit. Bezeichnung A^2.

Fig. 3. Dazu gehöriger normaler, 4 Tage (5. Mai bis 9. Mai) alter Kontrollembryo. Konservierung in Zenker scher Flüssigkeit.

Fig. 4. 5 Tage (5. Mai bis 10. Mai) altes Ei derselben Versuchsreihe mit rudimentärer Entwicklung der Medullarplatte. Konservierung in Chrom-Sublimat-Essigsäure. Bezeichnung A^3.

Fig. 5. Zu Fig. 4 gehörender 5 Tage (5. Mai bis 10. Mai) alter normaler Kontrollembryo. Konservierung in Chrom-Sublimat-Essigsäure.

Fig. 6. 6 Tage (5. Mai bis 11. Mai) altes Ei derselben Versuchsreihe mit verkümmerter Anlage des Zentralnervensystems und wenig ausgebildetem Kopf- und Schwanzhöcker. Konservierung in Chrom-Sublimat-Essigsäure. Bezeichnung A⁴.

Fig. 7. Zu Fig. 6 gehörender 6 Tage alter normaler Kontrollembryo. Konservierung in Chrom-Sublimat-Essigsäure.

Fig. 8. 9 Tage (5. Mai bis 14. Mai) alter, am besten und längsten entwickelter Embryo derselben Versuchsreihe mit vortretendem Kopfhöcker, der Augenblasen zeigt, und mit Schwanzhöcker. Im Vergleich zu den 12 mal vergrösserten Fig. 1—7 ist Fig. 8, ebenso wie Fig. 9 und 10, nur 8 mal vergrössert. Konservierung in Chrom-Sublimat-Essigsäure. Bezeichnung A⁶.

Fig. 9. Zur Fig. 8 gehörender 9 Tage alter, aus der Gallerthülle vor der Fixation herauspräparierter normaler Kontrollembryo. Konservierung Chrom-Sublimat-Essigsäure. Vergr. 8 mal.

Fig. 10. 7 Tage (5. Mai bis 12. Mai) alter normaler Kontrollembryo. Konservierung in Flemmingscher Flüssigkeit. Vergr. 8 mal.

Fig. 11—33. Alle Larven sind bei 8 facher Vergrösserung photographiert.

Fig. 11. 13 Tage (17. April bis 30. April) alte normale Kontrollarve. Konservierung in Zenkerscher Flüssigkeit. Bezeichnung D¹.

Fig. 12 und 13. 13 Tage (17. April bis 30. April) alte Larven, aus Eiern gezüchtet, die mit Samenfäden befruchtet wurden, nachdem dieselben 2 Stunden lang zwischen zwei Mesothoriumkapseln von 50 mg Radiumbromid bestrahlt worden waren. Konservierung in Zenkerscher Flüssigkeit. Bezeichnung D¹.

Fig. 14. 19 Tage (17. April bis 6. Mai) alte normale Kontrollarve. Konservierung in Flemmingscher Flüssigkeit. Bezeichnung D².

Fig. 15 und 16. 19 Tage (17. April bis 6. Mai) alte Larven, aus Eiern gezüchtet, die mit Samenfäden befruchtet wurden, nachdem dieselben 2 Stunden lang, wie in Fig. 12 angegeben, bestrahlt worden waren. Konservierung in Flemmingscher Flüssigkeit. Bezeichnung D².

Fig. 17. 19 Tage (17. April bis 6. Mai) alte normale Kontrollarve. Konservierung in Pikrin-Sublimat-Essigsäure. Bezeichnung D³.

Fig. 18 und 19. 19 Tage (17. April bis 6. Mai) alte Larven, deren Eier in der bei Fig. 12 angegebenen Weise befruchtet wurden. Konservierung in Pikrin-Sublimat-Essigsäure. Bezeichnung D³.

Fig. 20. 20 Tage (17. April bis 7. Mai) alte normale Kontrollarve. Konservierung in Flemmingscher Flüssigkeit. Bezeichnung D⁴.

Fig. 21 und 22. 20 Tage (17. April bis 7. Mai) alte Larven, deren Eier in der bei Fig. 12 angegebenen Weise befruchtet wurden. Konservierung in Flemmingscher Flüssigkeit. Bezeichnung D⁴.

Fig. 23. 28 Tage (16. April bis 14. Mai) alte normale Kontrollarve. Konservierung in Pikrin-Sublimat-Essigsäure. Bezeichnung C³.

Fig. 24 und 25. 28 Tage (16. April bis 14. Mai) alte Larven, deren Eier mit Samenfäden befruchtet wurden, nachdem dieselben 3 Stunden zwischen zwei Mesothoriumkapseln von 50 mg Radiumbromid bestrahlt worden waren. Konservierung in Pikrin-Sublimat-Essigsäure. Bezeichnung C³.

Fig. 26. 27 Tage (17. April bis 14. Mai) alte Larve, deren Ei mit Samenfäden befruchtet wurde, nachdem dieselben 2 Stunden zwischen zwei Mesothoriumkapseln bestrahlt worden waren. Konservierung in Zenkerscher Flüssigkeit. Bezeichnung D[6].

Fig. 27. 27 Tage (17. April bis 14. Mai) alte normale Kontrollarve. Konservierung in Zenkerscher Flüssigkeit. Bezeichnung D[5].

Fig. 28, 29 und 31. Tritonlarven, deren Eier mit Samenfäden von Salamandra maculata bastardiert wurden, nachdem dieselben 2 1/4 Stunden lang zwischen zwei Mesothoriumkapseln bestrahlt worden waren.

Fig. 28. 15 Tage (19. April bis 4. Mai) alte Larve. Konservierung in Flemmingscher Flüssigkeit. Bezeichnung Trit. Salam. A[1].

Fig. 29. 18 Tage (19. April bis 7. Mai) alte Larve. Konservierung in Pikrin-Sublimat-Essigsäure. Bezeichnung Trit. Salam. A[2].

Fig. 30. 27 Tage (19. April bis 16. Mai) alte normale Kontrollarve.

Fig. 31. 27 Tage (19. April bis 16. Mai) alte Radiumlarve. Konservierung in Pikrin-Sublimat-Essigsäure. Bezeichnung Trit. Salam. A[3].

Fig. 32. 17 Tage (7. Mai bis 24. Mai) alte normale Kontrollarve. Konservierung in Pikrin-Sublimat-Essigsäure. Bezeichnung Trit. E.

Fig. 33. 17 Tage (7. Mai bis 24. Mai) alte Tritonlarve, entstanden aus einem Ei, das mit Samenfäden von Triton, nachdem sie 2 Stunden lang (9 Uhr 10 Minuten bis 11 Uhr 10 Minuten) zwischen zwei Mesothoriumkapseln bestrahlt worden waren, befruchtet wurde.

Fig. 34 und 35. Photographien zweier Muttersterne bei 1000 facher Vergrösserung von Epidermiszellen der Schwanzflosse. Das mit Boraxkarmin gefärbte Totalpräparat des Schwanzendes entstammt einer 24 Tage alten Radiumlarve D[5]. Sie entwickelte sich aus einem Ei, das mit Samenfäden befruchtet wurde, nachdem sie 2 Stunden lang zwischen zwei starken Mesothoriumpräparaten bestrahlt worden waren.

Fig. 34 und 35a sind die unveränderten Abzüge der von Herrn Professor Poll angefertigten photographischen Platten.

Fig. 34 und 35b wurden erhalten, indem die einzelnen Chromosomen auf Grund des genaueren Studiums des Canadabalsampräparates genauer ausgezeichnet und mit Tusche übermalt wurden, worauf auf chemischem Weg das photographische Bild entfernt wurde.

Tafel II.

Fig. 1. Durchschnitt durch ein 3 Tage altes Tritonei (5. Mai bis 8. Mai), das mit bestrahlten Samenfäden befruchtet worden war. (Serie A.) Die Samenfäden wurden 5 Minuten mit 17 1/2 mg (= 5,3 mg reinem Radiumbromid) bestrahlt. Keimblasenstadium. Konservierung in Chrom-Sublimat-Essigsäure. Vergr. 40 mal.

Fig. 2. Durchschnitt durch ein 3 Tage altes Tritonei (5. Mai bis 8. Mai), das mit bestrahlten Samenfäden befruchtet worden war. (Serie B.) Der Samen wurde 15 Minuten mit 17 1/2 mg (= 5,3 mg reinem Radiumbromid) bestrahlt. Beginn der Gastrulation. Konservierung in Chrom-Sublimat-Essigsäure. Vergr. 40 mal.

Fig. 3. Durchschnitt durch ein der Serie B angehörendes, aber nur 2 Tage altes Ei (5. Mai bis 7. Mai). Beginnender Zerfall der Zellen auf dem Keimblasenstadium. Konservierung in Chrom-Sublimat-Essigsäure. Vergr. 40 mal.

Fig. 4—7. Schnittserie durch das hintere Ende der Medulla oblongata und den Anfang des Rückenmarks einer 18 Tage alten Tritonlarve (19. April bis 7. Mai). Die Eier wurden gekreuzt mit Samen von Salamandra maculata, nachdem er 2 Stunden 15 Minuten zwischen zwei starken Mesothoriumpräparaten bestrahlt worden war. (Serie Trit. Salam. A^2.) Konservierung Pikrin-Sublimat-Essigsäure. Vergr. 68 mal. Die Schnittserie zeigt eine Trennung der Medulla und des Anfangs des Rückenmarks in zwei Hälften durch Einfaltung.

Fig. 4. Beginn der Einfaltung.

Fig. 5. Trennung des vierten Ventrikels in zwei Höhlen durch eine Scheidewand.

Fig. 6. Anfang des Rückenmarks mit zwei sehr kleinen Höhlen an Stelle des Zentralkanals und einer mittleren Scheidewand von Nervenfibrillen.

Fig. 7. Fast vollständiger Schwund der zentralen Höhlen; mediane Scheidewand von Nervenfibrillen. Starke Bauchwassersucht in der Herzgegend.

Fig. 8 und 9. Zwei Querschnitte durch einen 6 Tage alten Tritonembryo der Serie A mit verkümmerter Anlage des Zentralnervensystems (5. Mai bis 11. Mai). Die Eier wurden mit Samen befruchtet, der mit 17 ½ mg (= 5,3 reinem Radiumbromid) bestrahlt worden war. Konservierung in Chrom-Sublimat-Essigsäure. Vergr. 100 mal. Ch. = Chorda; mp. = Verkümmerte Medullarplatte; mk. = Schlecht ausgebildetes mittleres Keimblatt.

Fig. 10 und 11. Zwei Querschnitte durch die Mitte (Fig. 10) und das Ende (Fig. 11) der Medulla oblongata von einer 4 Wochen alten Tritonlarve C^3. Entwicklung vom 16. April bis 14. Mai. Die Eier wurden mit Tritonsamen befruchtet, der 3 Stunden lang zwischen zwei starken Mesothoriumpräparaten bestrahlt worden war. Von Ependymzellen aus hat sich eine Geschwulstmasse in den vierten Ventrikel entwickelt. Konservierung Pikrin-Sublimat-Essigsäure. Vergr. 68 mal.

Fig. 12 und 13. Schnitte durch zwei Tritoneier im Alter von 2 Tagen (5. Mai bis 7. Mai) mit ausgeprägten Zerfallserscheinungen. Serie B^1. Die Eier wurden mit Samen befruchtet, der 15 Minuten lang mit Radiumpräparat (17 ½ mg) bestrahlt worden war. Konservierung Chrom-Sublimat-Essigsäure. Vergr. 40 mal.

Fig. 14. Schnitt durch eine 5 Tage alte Keimblase von Triton (A^3). Das Ei wurde mit Samen befruchtet, der 5 Minuten mit Radiumpräparat (17 ½ mg) bestrahlt worden war. Losgelöste und durch Radiumwirkung geschädigte Zellen am Boden der Keimblasenhöhle. Konservierung Chrom-Sublimat-Essigsäure. Vergr. 40 mal.

Tafel III.

Fig. 1. Querschnitt durch die Augengegend einer 19 Tage alten Radiumlarve D^3, die in Fig. 19 abgebildet ist. Bestrahlung des zur Befruchtung verwandten Samens während 2 Stunden zwischen zwei starken Mesothoriumpräparaten. Konservierung in Pikrin-Sublimat-Essigsäure. Vergr. 43 mal.

Fig. 2. Querschnitt durch die Augengegend der zu Fig. 1 gehörenden, in Fig. 17 (Taf. I) abgebildeten Kontrollarve D^3. Vergr. 43 mal.

Fig. 3. Querschnitt durch die Augengegend einer 18 Tage alten Tritonlarve, deren Ei mit bestrahlten Samenfäden von Salamandra maculata besamt wurde. 2 ¼ stündige Bestrahlung zwischen zwei starken Mesothoriumpräparaten. (Trit. Salam. A^2.) Konservierung Pikrin-Sublimat-Essigsäure. Vergr. 43 mal.

Fig. 4. Frontalschnitt durch den Kopf einer 24 Tage alten Radiumlarve D^5. Das Ei wurde mit Spermien besamt, die 2 Stunden lang zwischen zwei starken Mesothoriumpräparaten bestrahlt worden waren. Konservierung Pikrin-Sublimat-Essigsäure. Vergr. 43 mal.

Fig. 5. Entsprechender Frontalschnitt durch die zu Fig. 4 gehörige Kontrolllarve D^5 gleichen Alters bei derselben Vergrösserung.

Fig. 6. Frontalschnitt durch die Rückengegend des Rumpfes derselben Larve, deren Kopfschnitt in Fig. 4 abgebildet ist bei gleicher Vergrösserung.

Fig. 7. Entsprechender Frontalschnitt durch den Rücken des Rumpfes der hierzu gehörigen Kontrollarve D^5 bei gleicher Vergrösserung wie Fig. 5.

Fig. 8. Photographie der Gallertplatte mit Gallertzellen vom Rand des dorsalen Flossensaumes in der Gegend vis-à-vis der Ausmündung des Afterrohres. Präparat von einer 17 Tage alten Kontrolllarve (E) (Taf. I, Fig. 32). Konservierung Pikrin-Sublimat-Essigsäure.

Fig. 9. Photographie der entsprechenden Gallertplatte mit Zellen aus derselben Gegend wie in Fig. 8 von einer 17 Tage alten Radiumlarve (Taf. I, Fig. 33). Das Ei wurde mit Spermien besamt, die 2 Stunden lang zwischen zwei starken Mesothoriumpräparaten bestrahlt worden waren. Konservierung in Pikrin-Sublimat-Essigsäure.



Aus dem Biologischen Institut der Universität Berlin.

Über künstliche Entwicklungserregung bei Amphibien.[1]

Von
Fritz Levy.

Hierzu 8 Textfiguren.

Im Jahre 1762 entdeckte der Genfer Naturforscher und Philosoph Bonnet die Parthenogenese bei der Reblaus Phylloxera vastatrix. Seine briefliche Mitteilung, die der berühmte Physiker Réaumur der Pariser Akademie vorlegte, erregte damals grosse Bedenken: „gegen eine Entdeckung, welche einem allgemeinen und durch alle bisherigen Erfahrungen einmütig bestätigten Gesetz entgegen wäre“. Seit dieser wichtigen Beobachtung haben sich viele Biologen mit den Vorgängen bei der Parthenogenese beschäftigt. Die Literatur ist auf botanischem wie zoologischem Gebiete beträchtlich angewachsen; aber erst in den letzten Dezennien beginnt eine Klärung der Vorgänge einzutreten. Nach den grundlegenden Arbeiten von R. Hertwig, Loeb, Delage u. a. kam zu der bis dahin bekannten „natürlichen“ Parthenogenese auch noch die sogenannte „künstliche“ Parthenogenese. Die Untersuchungen darüber befassten sich fast alle mit Avertebraten, vorwiegend Echinodermen, dann auch Würmern und Mollusken. Ich darf es mir versagen, näher auf ältere Arbeiten über Parthenogenese bei Wirbeltieren, wie die von Schenk, Oellacher u. a. einzugehen, da es sich dort zumeist um Reifungserscheinungen des Eies handelt.

Bataillon, der sich schon seit vielen Jahren mit der künstlichen Entwicklungserregung bei Amphibien befasste, gelang es im Jahre 1910 diese Entwicklungserregung auszulösen. Nach ihm haben Dehorne, Henneguy, Brachet und Mc Clendon diese Versuche wiederholt. Bis jetzt ist es anscheinend nur Delage bei seinen zwei Seeigeln gelungen, durch künstliche Entwicklungserregung erzeugte Embryonen durch das kritische

[1]) Nach einem in der Gesellschaft naturforschender Freunde in Berlin in der Sitzung vom 17. Dezember 1912 gehaltenen Vortrage.

Stadium der Metamorphose hindurchzubringen. Im Jahre 1912 gelang es mir, zwei nach der Methode von Bataillon erzeugte Frösche zu erzielen. Ich habe diese Versuche neben meinen Lichtversuchen über Teilentwicklungen aufgenommen, da mir die Versuchsanordnung die Aussicht zu bieten schien, in mancherlei Beziehung theoretisch wichtige Aufschlüsse zu geben. Leider sind die Versuche noch nach keiner Richtung hin vollständig abgeschlossen: trotzdem glaube ich, da meine bisherigen Ergebnisse in nicht unwesentlichen Punkten über die anderer Autoren hinausgehen, schon heute berechtigt zu sein, als vorläufige Mitteilung das zu veröffentlichen, was ich in diesem Jahre gefunden habe. Ich hoffe im nächsten Jahre bereits in der Lage zu sein, nach einem weit grösseren Materiale umfassendere und vielleicht auch zwingendere Angaben zu machen. Es wird aber, dessen bin ich mir wohl bewusst, noch vieler Versuche und Untersuchungen bedürfen, bis es gelingen wird, alle Lücken der Beweisführung in dem Bauplan auszufüllen, dessen Entwurf ich im Anschluss an meine Versuchsergebnisse versucht habe.

Methode.

Bei allen Versuchen wurde mit Einhaltung peinlichster Asepsis gearbeitet, nach den Vorschriften, wie sie in der operativen Medizin und Bakteriologie üblich sind. Alle Instrumente wurden durch Kochen, die Tücher und Glassachen durch strömenden Dampf sterilisiert. Die Versuchstiere trennte ich, sobald sie mir gebracht wurden, aus der Copula und bewahrten sie nach Geschlechtern getrennt bis zum Versuche auf. Zuerst wurden die Weibchen decapitiert, auf ein steriles Tuch gelegt und, wie es heute in der Chirurgie üblich ist, zu gründlicher Desinfektion und sicherer Abtötung aller Spermatozoen, die etwa am Leibe hafteten, über den ganzen Leib mit Jodtinktur angestrichen. Besondere Aufmerksamkeit wurde auf den Anstrich der Kloakengegend verwandt. Mit steriler Schere und Pinzette öffnete ich dann die Bauchhaut, mit einer zweiten sterilen Schere und Pinzette, die also sicher weder mit Spermatozoen, noch mit Jodtinktur an der Bauchhaut in Berührung gekommen waren, den sogenannten Uterus. Mit einem sterilen Glasstabe wurden 50—60 Eier in kleinen Gruppen auf einen sterilen Objektträger verteilt und unter einem binokularen Mikroskop angestochen.

Das Hauptinstrument (Fig. 1) ist ein rechtwinklig gebogener Glasstab, dessen kürzerer Schenkel in eine kleine Kugel endet. In diese Kugel ist ein 20, 30 oder 50 μ dicker Draht aus Platin oder Platin mit 10 % Iridium eingeschmolzen. Bei einer grossen

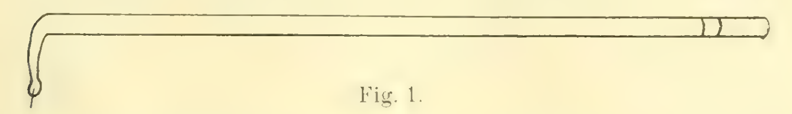


Fig. 1.

Anzahl von Versuchen wurden die Drähte in 0,3 % NaCl oder in Blut der Mutter eingetaucht. Bataillon glaubt dadurch günstigere Ergebnisse zu erzielen; ich kann darüber heute noch kein abschliessendes Urteil abgeben.

Nach dem Anstechen wurden die Eier in sterile Satten mit Leitungswasser abgespült. Das Leitungswasser habe ich nicht sterilisiert, da es sicher in den Leitungen keine lebenden Spermatozoen enthält. Eine Serie Kontrolleier wurde, ohne dass ihnen irgend etwas geschah, aus dem Uterus in Wasser gelegt, um zu beweisen, dass sicher an die Eier keine Spermatozoen herangekommen waren. Das erwies sich auch so; denn in keinem Versuche konnte ich in diesen Kontrollsatten auch nur eine Furchung sehen. Wenn bei den Eiern der Versuche und der Kontrolle die Gallerte schon stark aufgequollen war, legte ich eine zweite Kontrolle an. Die Eier dieser Serie wurden in üblicher Weise künstlich befruchtet, um einen Anhalt zu liefern, ob die Eier überhaupt entwicklungsfähig waren. Dieser zweiten Kontrolle verdankte ich die Erklärung, warum in einigen Versuchen die Resultate vollkommen negativ ausfielen. Erst wenn Furchungen aufgetreten waren, also nach etwa 3½—4 Stunden bei 15° C., legte ich zu besserer Durchlüftung Elodea in die Satten; so kann also die Elodea keine Spermatozoen übertragen haben.

Versuche und Ergebnisse.

Wir haben im ganzen etwa 8000 Eier[1]) angestochen von: Rana temporaria (fusca), arvalis, esculenta, Bufo vulgaris, Triton cristatus und taeniatus. Bei den Tritonarten war es wegen der Festigkeit der Gallerte nicht möglich, das Anstechen der Eier

[1]) Es wäre mir kaum möglich gewesen, die Versuche in diesem Umfange durchzuführen, wenn ich nicht die hingebende Unterstützung des Herrn stud. med. Heinrich Strohmann gehabt hätte, dem ich auch an dieser Stelle noch einmal meinen herzlichsten Dank aussprechen möchte.

ohne zu starke Schädigung auszuführen. Bei Bufo vulgaris erzielte ich einige Furchungen, die aber zumeist mehr oder minder Barockfurchungen waren. Die Schuld daran ist wohl zu nicht geringem Teil dem Umstande zuzuschreiben, dass die Eier beim Herausziehen der Schnüre etwas gezerrt werden. Die Froscheier stellten sich fast alle nach dem Anstich polar ein, von ihnen haben sich in manchen Versuchen bis zu 20 % gefurcht, in anderen 2 % oder auch fast gar nichts, durchschnittlich etwa 9,75 %. Diese Ergebnisse sprechen sehr dafür, wie es auch Delage bei Echinodermen annahm, dass das Ei Stadien hat, in denen es mit mehr

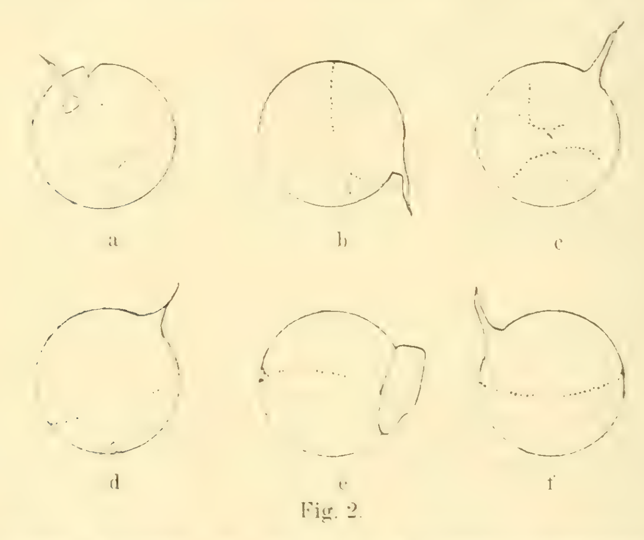


Fig. 2.

Erfolg als in anderen zu künstlicher Entwicklungserregung gebracht werden kann. So erhielt ich etwa 800 Furchungen, von denen viele anscheinend normal, die übrigen aber barock gestaltet waren. Fig. 2 und 3 geben davon einen Überblick. Die kleinen Spitzen in Fig. 2 sind Extraovate, die immer an den Stichstellen austreten und später wie Fremdkörper durch die Gallerte ausgestossen werden. Fig. 2 f zeigt eine bis auf das Extraovat vollkommen normal aussehende Furchung; es erhellt daraus auch, dass das Extraovat nichts mit der ersten Furchungsebene zu tun zu haben scheint. In Fig. 3 habe ich zwei

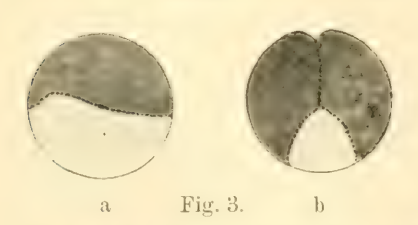


Fig. 3.

sehr interessante Barockfurchungen bei Rana esculenta skizziert. Bei 3 a verläuft die erste Furchungsebene gerade an der Grenze von animalem und vegetativem Pol, bei 3 b hat sich nur der animale Pol gefurcht. Im ganzen haben sich 24 Embryonen über die Gastrula hinaus entwickelt, aber nur 11 von ihnen verliessen die Gallerthülle und wurden frei schwimmende Kaulquappen, die auch mehr oder minder bald starben. Es zeigten sich verschiedene Missbildungen, wie Spina bifida, Verkrümmungen u. a. Eine Kaulquappe starb während der Metamorphose, als die Hinterbeine schon gut entwickelt waren und Stummel von Vorderbeinen gerade sichtbar zu werden anfingen. Zwei wurden Frösche, die an Land gingen, davon eine Rana temporaria (fusca) und eine Rana esculenta var. ridibunda. Die Rana esculenta lebte nur drei Tage auf dem Lande und starb als sie noch einen kleinen Schwanzstummel hatte. Die Rana temporaria lebte etwa einen Monat als Frosch. Die Aufzucht dieser Jungfrösche ist ungemein schwer, so habe ich zwar Kontrolltiere von Rana temporaria, die jetzt noch leben, aber leider keine von Rana esculenta. Die Aufzucht wurde mir sehr erleichtert durch Anlegen einer Anzahl Kulturen von Drosophila.[1])



a Fig. 4. b

Rana temporaria (fusca). Am 21. März 1912 a in üblicher Weise künstlich befruchtet, b durch Anstich des Eies mit einem in das Blut der Mutter eingetauchten Platindraht von 20 μ Durchmesser erzeugt. Am 26. Juli 1912 unmittelbar nach dem Tode in natürlicher Grösse photographiert.

Wie Fig. 4 zeigt, ist der durch künstliche Entwicklungserregung erzeugte Frosch nur etwa halb so gross als das gleich

[1]) Für die freundliche Sendung der Stammkultur bin ich Herrn Dr. Paul Kammerer in Wien zu grossem Danke verpflichtet.

alte Kontrolltier. Schon während der ganzen Entwicklung als freilebende Kaulquappen wurde an ihnen die Beobachtung gemacht, dass die Versuchstiere hinter den Kontrollen an Grösse zurückblieben. Die Tiere stammen aus reifen Eiern, d. h. aus Eiern, die durch Reduktionsteilungen ihre Kernmasse auf die Hälfte vermindert haben. Es ist natürlich von grossem Interesse, zu erfahren, ob sich die Chromosomenzahl reguliert, und ob die Chromatinmasse ergänzt wird, ob also die künstlich erzeugten Embryonen dieselben Kerngrössen wie die normalen Kontrolltiere haben. Zur Bestimmung der Chromosomenzahl schnitt ich von einigen der oben erwähnten 11 Kaulquappen wie den gleichalterigen Kontrollen die äusserste Schwanzspitze ab. Dieser kleine Eingriff erwies sich als vollkommen harmlos. Es stösst auf grosse Schwierigkeiten, genaue Chromosomenzahlen anzugeben, ich glaube aber doch nach mehreren günstig liegenden Äquatorialplatten sagen zu können, was auch Bataillon angibt, dass in den Versuchstieren kaum mehr als 12, sicher aber nicht etwa 24 wie bei den Kontrollen zu sehen waren. Nach Boveri steht die Zahl der Chromosomen im direkten Verhältnis zur Kerngrösse. Zur richtigen Deutung der Messungsbefunde ist eine kleine mathematische Erwägung nötig. Der Kern ist aller Wahrscheinlichkeit nach zumeist als ein körperliches und nicht als ein flächenhaftes Gebilde zu

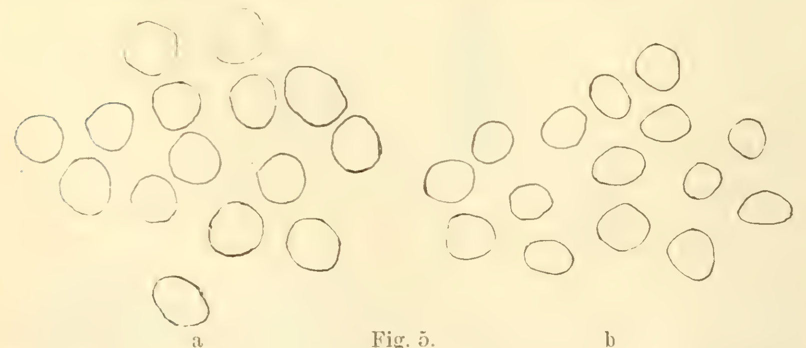


Fig. 5.

Knorpelkerne. 1000fache Vergröss. a = Kontrolltier, b = Versuchstier.

betrachten. Wenn man sich die Kerne, um sich die Verhältnisse klarzumachen, der Einfachheit halber als Kugeln vorstellt, wobei ϱ den Radius im Kerne des Kontrolltieres, r den Radius im Kerne des Versuchstieres bezeichnen möge, so ergibt sich folgende Berechnung:

Angenommen, die Kernvolumina verhalten sich

$$\frac{4\pi}{3} r^3 : \frac{4\pi}{3} \varrho^3 = \frac{1}{2}$$

dann ist

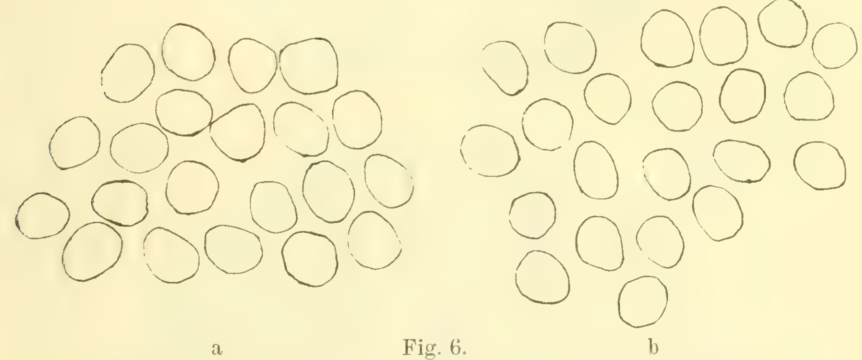
$$\frac{r^3}{\varrho^3} = \frac{1}{2}; r = \sqrt[3]{\frac{\varrho^3}{2}} = \frac{\varrho}{2} \sqrt[3]{4} = \varrho \cdot 0{,}7937$$

$$\frac{r}{\varrho} = 0{,}7937$$

$$\frac{r^2}{\varrho^2} = 0{,}6299$$

$$\frac{r^3}{\varrho^3} = 0{,}5$$

Aus dieser Berechnung ergibt sich nun praktisch: Wenn die Kerne sich in ihrer Gestalt der Kugelform nähern, verhalten sich die Durchmesser etwa wie 4 : 5. Bei der Zeichnung wie



a Fig. 6. b

Kerne aus der den Ependymzellen am nächsten liegenden Kernschicht der grauen Substanz des Rückenmarkes. 1000fache Vergrösserung. a = Kontrolltier, b = Versuchstier.

bei der Photographie kann ein einzelner Kern, sei es ungünstig liegen, sei es im Schnitt oder in der photographischen Einstellung nicht mit seinem grössten Umfange getroffen sein. Bei den Zeichnungen haben wir von jedem Kern immer den grössten Umfang gezeichnet, bei der Mikrophotographie ist natürlich nur auf eine Ebene scharf eingestellt. Die wahren Vergleichswerte ergeben die Integrale über die Gesamtheit der Flächen auf jeder Seite. Die Zeichnungen sind mit Zeiss' Apochromat-Immersion 2 mm N. A. 1,30 und Kompensationsokular 8 bei einem Abstand von 25 cm vom Okular zur Zeichenfläche mit Hilfe des Edinger-

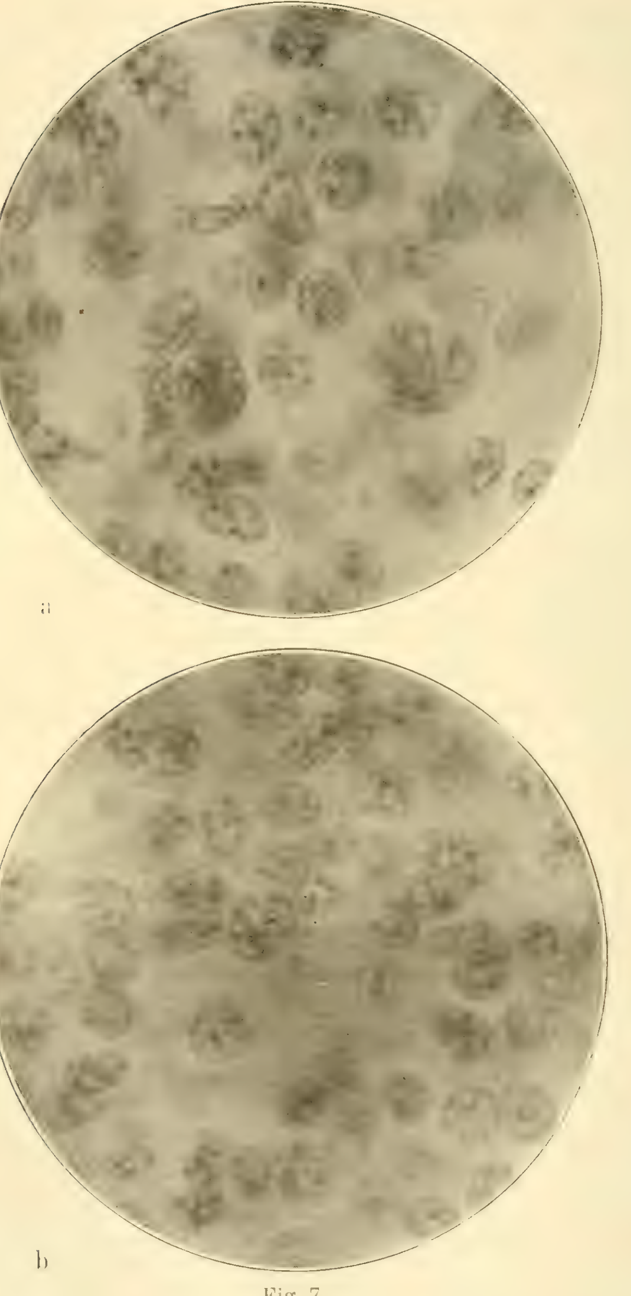


Fig. 7.

Mikrophotographien von Kernen aus der den Ependymzellen am nächsten liegenden Kernschicht der grauen Substanz des Rückenmarkes. 1000fache Vergr. a = Kontrolltier, b = Versuchstier. Es ist beachtenswert, dass bei gleich grossem Gesichtsfeld bei b bedeutend mehr Kerne sichtbar sind als bei a.

schen Zeichenapparates entworfen; die Vergrösserung ist also etwa 1000 fach. Auch Fig. 7, eine Mikrophotographie aus der den Ependymzellen am nächsten liegenden Kernschicht der grauen Substanz des Rückenmarkes, die auch bei etwa 1000 facher Vergrösserung hergestellt ist, bestätigt bei Berücksichtigung aller Fehlerquellen wie die Zeichnungen die Annahme, dass die durch Anstich mit dem Platindraht erzeugten Tiere nur die halbe Kernmasse enthalten. Fig. 8 stellt ganze Erythrozyten mit ihren



a Fig. 8. b

Erythrozyten mit ihren Kernen. 1000 fache Vergröss. a = Kontrolltier, b = Versuchstier.

Kernen dar. Die Zellgrössen bei Kontroll- und Versuchstieren verhalten sich infolge der von Richard Hertwig beschriebenen Kernplasmarelation wie die Kerngrössen. Wenn ich diese Befunde unter Berücksichtigung der Boverischen Regel mit den gesehenen Mitosenbildern zusammen betrachte, glaube ich mit Sicherheit annehmen zu dürfen, dass die Versuchstiere nur die halbe Chromosomenzahl haben, also „haploid" sind. Die in dieser Arbeit abgedruckten Photographien und Zeichnungen sind nach Schnitten durch die in Fig. 4 abgebildeten Frösche gemacht. Natürlich habe ich auch eine grosse Anzahl Zeichnungen von anderen Versuchstieren gemacht, die entsprechende Werte ergeben.

Besprechung.

Bisher war es gelungen, im normalen Befruchtungsvorgange zwei Faktoren zu erkennen: die Entwicklungserregung und die Vererbung elterlicher Erbmassen. Die erfolgreichen Versuche mit künstlicher Entwicklungserregung und die zytologischen Befunde weisen uns, glaube ich, noch auf einen dritten recht wesentlichen Faktor hin: die Erhaltung der Fortpflanzungsfähigkeit. Genaue und zwingende Erörterungen über künst-

liche Entwicklungserregung, Parthenogenese und normale Befruchtung können nur bei Tierarten gemacht werden, bei denen wir die Kerngeschichte, den normalen Verlauf der Reifungsvorgänge in den Geschlechtszellen genau kennen. Aus diesem Grunde habe ich auch die Spermiogenese der verschiedenen Rana-Arten zu untersuchen unternommen. Leider sind diese Untersuchungen erst für eine Art, Rana esculenta, soweit gefördert, dass ich hoffe, sie in wenigen Wochen veröffentlichen zu können. Es würde zu weit führen, hier auch nur eine kurze Darstellung des Reduktionsproblems, um das es sich hier handelt, zu geben. Die Literatur ist bereits ins Ungemessene gewachsen. Vortreffliche Zusammenstellungen darüber finden sich bei Korschelt und Heider, bei Fick und in Oskar Hertwigs Allgemeiner Biologie. Ich möchte hier nur kurz aus meiner demnächst zu veröffentlichenden Mitteilung vorwegnehmen, dass bei Rana, ähnlich wie es King bei Bufo beschreibt, nach dem Synapsisstadium sich je zwei Chromosomen Ende an Ende zusammenfinden. Diese ringförmigen Tetraden gehen in eine nach Flemmings Bezeichnung „heterotypische" Mitose; diese zeigt die sogen. „Tonnenform". Aus ihr gehen durch Querteilung Dyaden hervor. Die Dyaden bilden keinen Ruhekern, sondern gehen gleich wieder in Mitose, aus der Monaden entstehen. Betreffs der Einzelheiten verweise ich auf meine demnächst in diesem Archiv erscheinende Arbeit.

Wir fanden, dass die durch künstliche Entwicklungserregung erzeugten Kaulquappen und Frösche in ihren Kernen haploid sind. Dieselbe Beobachtung beschreibt Günther Hertwig. Bei seinen Versuchen mit Radiumschädigungen von Ei oder Sperma hat er bis zu 10 Tage alte Larven bekommen, die, wie er angibt, haploide Kerne hatten. Er sagt dazu: „Der haploide Kern kann sowohl von der Mutter, als auch vom Vater geliefert werden." Der erste Fall entspricht meinen Versuchen, der zweite dem Vorgange, den wir mit Delage als Merogonie zu bezeichnen pflegen. Auch Oppermann hat, wie er mir freundlichst mitteilte, bei seinen Bestrahlungen an Forelleneiern ähnliche Befunde wie Günther Hertwig erhoben. Hier müssen noch zwei Arbeiten in Erwägung gezogen werden, die von Kupelwieser: „Entwicklungserregung bei Seeigeleiern durch Molluskensperma", und die von G. Hertwig: „Über das Schicksal des mit Radium bestrahlten Spermachromatins".

Auf das Verhältnis der normalen Parthenogenese komme ich später zu sprechen. Bei Günther Hertwigs und Oppermanns Versuchen geht der Spermakern aus wenig geschädigten Spermatozoen noch eine Amphimixis ein; G. Hertwig weist mit Recht darauf hin, dass wir es hier mit ähnlichen Verhältnissen zu tun haben wie bei den Bastarden. Aber lediglich die Tiere, die aus schwach geschädigtem Sperma entstanden sind, entsprechen den echten Bastarden, denn Günther Hertwig gibt ferner an, dass das stark beschädigte Spermachromatin ausgeschieden wird, wie bei Kupelwieser der Mytilusspermakern. Dadurch haben wir in diesen Fällen praktisch auch eine asperme Entwicklungserregung. Die Tiere entwickeln sich rein monokaryotisch. Mit vollem Recht glaube ich, können wir dazu auch noch die Merogonie rechnen, die ja durch das Fehlen des Eikerns auf dasselbe herauskommt. Leider liegen keine neueren Untersuchungen über die Reifeteilungen bei Echinodermen vor. Nach meinen Befunden bei der Spermiogenese bei Rana glaube ich, dass es nicht allzu gewagt ist, folgende Hypothese, die ich vorläufig aber selbst noch als Arbeitshypothese betrachte, aufzustellen:

Eikern wie Spermakern sind gleichwertige Gebilde, die jedes für sich bei Vorhandensein einer geeigneten Plasmamenge durch verschiedene zur Zeit ihrer Wirkung nach unbekannt Reize zur Entwicklung eines Embryo mit haploiden Kernen angeregt werden können. Tritt im normalen Verlauf der Reifeteilungen bei der betreffenden Tierart eine Reduktion ein, so muss das Tier, das schon in den Somazellen haploide Kerne hat (was wenig wahrscheinlich ist), unter Änderung des Reifungsmodus die Reduktion ausfallen lassen oder es wird nicht geschlechtsreif. Leider ist es mir bisher nicht gelungen, einen Frosch bis zu dem Alter zu bringen, in dem er geschlechtsreif werden müsste, ich hoffe dabei in späteren Versuchen mehr Glück zu haben. Als Einwand könnte gegen diese Hypothese erhoben werden, dass der eine Seeigel von Delage Spermatozoen entwickelt hat. Dagegen ist zu bemerken, dass bei Echinodermen vielleicht auch normal Parthenogenese vorkommt; ihre Spermiogenese ist zudem nicht genügend bekannt. Im Gegensatze zu Wilson, Morgan u. a. beschreibt Delage, dass seine durch künstliche Entwicklungs-

erregung erzeugten Seeigel diploid waren. Kernmessungen hat er nicht vorgenommen, wie er mir mitzuteilen, die Liebenswürdigkeit hatte. Über die Verhältnisse bei normaler Parthenogenese verweise ich auf die einschlägige Literatur. Mit vortrefflicher Klarheit hat jüngst Schleipp die Resultate der Untersuchungen über Reifeteilungen bei Parthenogenese zusammengestellt:

„Obligatorisch parthenogenetische Eier, d. h. solche, die nicht befruchtet werden können, verhalten sich bei ihren Reifungsteilungen verschieden; stets aber unterbleibt die Reduktion der Chromosomenzahl. Fakultativ parthenogenetische Eier, d. h. solche, die sich befruchtet oder unbefruchtet entwickeln können, erfahren stets eine Zahlenreduktion: sie entwickeln sich mit der halben Chromosomenzahl zu Männchen, in deren Spermatogenese dann die Reduktion der Chromosomenzahl ausfällt. Bei jeder ist nicht nur eine fortdauernde Verminderung der Chromosomenzahl schlechtweg, sondern auch der Zahl der verschiedenen Chromatineinheiten verhütet, falls eine Verschiedenheit zwischen denselben besteht."

In ähnlicher Weise äussern sich die Botaniker. Eine Aufregulierung in der Art, wie sie Brachet gesehen zu haben glaubt, erscheint mir wenig wahrscheinlich. Es ist sicher recht schwer, nach Schnitten die genaue Chromosomenzahl zu bestimmen, da durch Anschneiden der Schleifenchromosomen oder Überdeckungen leicht Irrtümer möglich sind. Unverständlich bleiben mir Dehornes Befunde, der beim normalen Frosch zwölf, bei den durch Anstechen gewonnenen Larven sechs gezählt hat. Aus der hoch interessanten Arbeit von Kostanecki über Mactra ersehen wir, ähnlich wie aus Bataillons Arbeiten, wie seltsame, meist wohl als pathologisch aufzufassende Mitosenformen bei der Bildung von Larven durch künstliche Entwicklungserregung auftreten. Er hat sicher recht, dass es ebenso wichtig ist, den Weg zur Larve, wie deren Kernverhältnisse kennen zu lernen. Weder bei Tieren noch bei Pflanzen ist bis jetzt ein Fall von Aufregulierung sichergestellt.

Die Anschauung von Loeb und vielen anderen Autoren bringt die künstliche Entwicklungserregung in Verbindung mit der Parthenogenese. Diese hängt sicher eng mit der normalen Befruchtung zusammen aus der sie wohl auch hervorgegangen ist. Bestätigt es sich nun weiterhin, dass auch bei den meta-

morphosierten Fröschen die Kerne haploid bleiben und dass diese Frösche nicht einen neuen Reifungsmodus einführen, sozusagen „ihre Spermiogenese umlernen", dann haben wir es hier nicht mit einer „künstlichen Parthenogenese" zu tun. Bei der echten Parthenogenese bleibt das normale Chromatinverhältnis gewahrt; deswegen können diese Tiere alle auch zeugungsfähige Nachkommen liefern. Bei der Bastardbildung kommt es durch Amphimixis auch zur Erhaltung der normalen Chromatinmasse, hier treten aber oft in der „Intimfusion" (Haecker) in der Reifung Störungen auf. Ich verweise hier auf die grundlegenden Arbeiten von Haecker und Poll. Ihrer Kernmasse nach könnten die Bastarde geschlechtsreif werden, wenn sie die Schwierigkeiten bei der Intimfusion überwinden. Die durch stammfremdes Sperma erzielten Tiere sind aber keine Bastarde. Sie entwickeln sich, wie oben besprochen, rein monokaryotisch, praktisch gehören sie also zur aspermen Entwicklungserregung. Wenn nun aus dem oben angeführten Grunde die F_1-Generation bei aspermer Entwicklungserregung und Befruchtung mit stammfremdem Sperma nur aus Abortivformen besteht, die nicht geschlechtsreif werden können, dann haben wir es hier nicht mit einer künstlichen Parthenogenese, sondern mit einer degenerativen Entwicklungserregung zu tun. Diese ist auch etwas Grundverschiedenes von der „generativen", haploiden Parthenogenese, denn sie liefert, wie z. B. bei Apis, wegen des veränderten Reifungsmodus geschlechtsreife Nachkommen.

Vorläufig ist das hier Entwickelte nur eine Hypothese, ich hoffe aber bald nach weiteren und umfassenderen Versuchen mehr Material zur Klärung der Verhältnisse beizubringen.

Literaturverzeichnis.

Bataillon, E.: Le problème de la fécondation circonscrit par l'imprégnation sans amphimixe et la parthénogenèse traumatique. Arch. de Zool. expér., 5e sér., T. V, 1910. (Viel Literaturhinweise!)

Boveri, Th.: Zellenstudien V. Über die Abhängigkeit der Kerngrösse und Zellenzahl der Seeigellarven von der Chromosomenzahl der Ausgangszellen. Jena 1905.

Brachet, A.: Etudes sur les localisations germinales et leur potentialité réelle dans l'oeuf parthénogénétique de Rana fusca. Arch. de Biologie, XXVII, 1911.

Clendon, Mc.: The relation of permeability change to cleavage in the Froggs egg. Science, XXXIII, 1911.

Dehorne, A.: Le nombre des chromosomes chez les Batraciens et chez les larves parthénogénétique de Grenouille. C. r. ac. d. sc., 1910.

Delage, Y.: Les vraies facteurs de la parthénogenèse expérimentale. Élevage des larves parthénogénétiques jusqu'à la forme parfaite. Arch. de Zool. expér., T. VII, 4e sér., 1908.

Fick, R.: Vererbungsfragen, Reduktions- und Chromosomenhypothesen, Bastardregeln. Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch., Bd. 16, 1907.

Haecker, V.: Bastardierung und Geschlechtszellenbildung. Festschrift f. Weismann. Zool. Jahrb., Suppl. 7, 1904.

Henneguy, E.: Sur la parthénogenèse expérimentale des Amphibiens. C. R. de l'acad. d. sc., 1911.

Hertwig, Günther: Radiumbestrahlung unbefruchteter Froscheier und ihre Entwicklung nach Befruchtung mit normalem Samen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 77, 1911.

Derselbe: Über das Schicksal des mit Radium bestrahlten Spermachromatins im Seeigelei. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 79, Abt. II, 1912.

Hertwig, Oskar: Allgemeine Biologie, 4. Aufl., Jena 1912.

Hertwig, Richard: Über Korrelation von Zell- und Kerngrössen und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biol. Zentralbl., Bd. 23, 1903.

King, Helen Dean: The spermatogenesis of Bufo lentiginosus. Americ. Journal of anatomy, Vol. VII, 1907.

Korschelt und Heider: Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte. Allgemeiner Teil.

v. Kostanecki, K.: Über künstliche Befruchtung und künstliche parthenogenetische Furchung bei Mactra. Bull. ac. soc., Krakau 1912.

Derselbe: Über parthenogenetische Entwicklung der Eier von Mactra mit vorausgegangener oder unterbliebener Ausstossung der Richtungskörper. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 78, 1911.

Kupelwieser, H.: Versuche über Entwicklungserregung und Membranbildung bei Seeigeleiern durch Molluskensperma. Biolog. Zentralbl., Bd. 26, 1906.

Derselbe: Entwicklungserregung bei Seeigeleiern durch Molluskensperma. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 27, 1909.

Levy, Fritz: Untersuchungen über den Einfluss ultravioletter Strahlen auf Sperma und Eier von Amphibien. Zeitschr. f. allgem. Physiologie, Bd. 13, 1911.

Loeb, J.: Untersuchungen über künstliche Parthenogenese. Übers. von Schwalbe. Leipzig 1906.

Derselbe: Die chemische Entwicklungserregung des tierischen Eies (künstliche Parthenogenese). Berlin 1909.

Poll, H.: Mischlingsstudien V. Vorsamenbildung bei Mischlingen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 77, 1911.

Schleipp, W.: Die Reifung des Eies von Rhodites rosae L. und einige allgemeine Bemerkungen über die Chromosomen bei parthenogenetischer Fortpflanzung. Zool. Anz., Bd. 35, 1909.

Winkler, H.: Parthenogenesis und Apogamie im Pflanzenreich. Jena 1908.

Dieses Literaturverzeichnis enthält nur die in der vorliegenden Arbeit angeführten Arbeiten

Anmerkung bei der Korrektur: Während der Drucklegung wurden mir die folgenden für hier behandelte Fragen wichtige Arbeiten zugänglich. Ich muss es auf eine spätere Mitteilung versparen, näher auf sie einzugehen.

Bataillon, E.: La parthénogénèse et la „fécondation chimique“ de Loeb. Annales d. sc. natur., 9e sér., 1912.

Conclin, E. G.: Cell-size and body-size. Journal of Morphology, Vol. 23, 1912.

Derselbe: Cell-size and nuclear-size. Journ. of experiment. Zoology. Vol. 12, 1912.

Erdmann, Rh.: Quantitative Analyse der Zellbestandteile bei normalem, experimentell verändertem und pathologischem Wachstum. Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch., Bd. XX, 2. Hälfte, 1912.

Erhard, H.: Studien über Nervenzellen. I. Allgemeine Grössenverhältnisse, Kern, Plasma und Glia. Arch. f. Zellforsch., Bd. VIII, 1912.

Hertwig, Günther: Parthenogenesis bei Wirbeltieren, hervorgerufen durch artfremden, radiumbestrahlten Samen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 81, Abt. II, 1913.

Hertwig, Paula: Das Verhalten des mit Radium bestrahlten Spermachromatins im Froschei. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 81, Abt. II, 1913.

Kupelwieser, H.: Weitere Untersuchungen über Entwicklungserregung durch stammfremde Spermien, insbesondere über die Befruchtung der Seeigeleier durch Wurmsperma. Arch. f. Zellforsch., Bd. VII, 1912.

Morgulis, S.: Studies of inanition in its bearing upon the problem of growth. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 32, 1911.



Aus dem Anatomisch-biologischen Institut der Universität Berlin.

Beiträge zur Kenntnis des Zeugungskreises der Microsporidien Glugea anomala Moniez und hertwigi Weissenberg.

Von

Richard Weissenberg.

Hierzu Tafel IV—VII und 6 Textfiguren.

Inhalt:

I. Einleitung und historischer Überblick.

Unter den Endoparasiten kann man bezüglich der Anpassung an das Leben im Wirtsorganismus drei Hauptstufen unterscheiden. Die niedrigste Stufe repräsentieren diejenigen Parasiten, die rücksichtslos Gewebe und Organe des Wirtes zerstören und dadurch schnell den Tod desselben herbeiführen.

Einen höheren Grad der Anpassung zeigt die Hauptmasse der Endoparasiten, die grosse Zahl von Formen, die sich auf ganz bestimmte Gewebe oder Organe beschränken und hier dem Wirte Säfte entziehen, ohne unmittelbar sein Leben zu bedrohen. Sie können sich stark vermehren oder zu bedeutender Grösse heranwachsen, ehe sie — sei es durch mechanische Schädigung, sei es durch die Zerstörung einer zu grossen Zahl von Zellen oder schliesslich durch die Masse ihrer Stoffwechselprodukte — gefährlich werden.

Biologisch am interessantesten ist schliesslich die höchste Stufe des Parasitismus. Für sie ist nicht so sehr das geschickte Ausnutzen der normalen Lebensvorgänge des Wirtes charakteristisch als vielmehr der Umstand, dass der Parasit den Wirt darüber hinaus zu Reaktionen reizt, die in erster Linie dem Eindringling zunutze kommen, dass er Teile des Wirtsorganismus zwingt, nicht mehr im Interesse des Ganzen, sondern lediglich zu Nutzen des Parasiten zu arbeiten.

Eine Reihe markanter Beispiele hierfür bietet das Pflanzenreich in den Gallbildungen. Die sich in der Blattknospe entwickelnde Gallwespenlarve reizt die Blattzellen zu einer mächtigen Geschwulstbildung, die als etwas der Blattorganisation Fremdes dem Baum zu nichts nutze ist, der Cynipidenlarve dagegen reiche Nahrung und eine sichere Wohnung bietet.

Gallbildungen, die durch den Reiz einzelliger Parasiten hervorgerufen werden, sind die Kohlhernie oder die Kropfkrankheit des Kohles. Umfangreiche Geschwülste kommen an den Wurzeln zahlreicher Kohlarten dadurch zustande, dass Zellen des Rindenparenchyms von der Myxamoebe Plasmodiophora brassicae Wor. befallen werden. Die Parasiten zerstören die Zellen nicht sogleich, sondern reizen sie zu lebhafter Wucherung und beträchtlicher Hypertrophie. Hand in Hand mit der Vergrösserung der befallenen Zellen vermehren sie sich selber und erfüllen schliesslich ihre Wirtszellen vollkommen.

Von wesentlichem Interesse ist der Umstand, dass Zellvermehrung und Zellhypertrophie unter dem Reize von parasitischen Protozoen nicht auf das Pflanzenreich beschränkt sind. Bei tierischen Objekten sind es die zur Gruppe der Sporozoen gehörigen Microsporidien, die die auffälligsten Erscheinungen dieser Art hervorbringen. Einer der markantesten Fälle ist die von Mrázek entdeckte und 1911 von mir eingehender untersuchte kolossale Hypertrophie, die die Ganglienzellen eines Fisches, des Lophius piscatorius, unter dem Reize der Microsporidie Glugea (richtiger Nosema) lophii erleiden.

An Ganglienzellen, in deren Plasma sich Microsporidiencysten entwickelt haben, konnte hier ein Längsdurchmesser von 900 μ, eine Breite von 800 μ und eine Höhe von 300 μ festgestellt werden, während der grösste Durchmesser normaler Ganglienzellen bei Fischen entsprechender Körperlänge in den gleichen Ganglien nie 100 μ überschritt. Die genauere Untersuchung ergab, dass sich ein von den Ganglienzellen abgehender Neurit nicht nachweisen liess und dass auch die feinere Struktur reichliche Veränderungen erfahren hat. Eine normale Funktion der Riesenzellen ist demnach ganz ausgeschlossen. Sie sind völlig in den Dienst des Parasiten gestellt, der sie befallen hat und durch ihre Vermittelung einen reichen Strom von Nahrungssäften aus dem Wirt aufnimmt. Da sie somit nur zugunsten des Parasiten wachsen, so verhalten sie sich selbst wie ein dem Körper feindliches Element. Morphologisch wäre noch zu bemerken, dass die Hypertrophie sich gleichmässig auf alle Teile der Zelle, insbesondere auch auf den Kern und die Nukleolarsubstanz erstreckt. So kommt es zur Bildung eines riesenhaften bläschenförmigen Kernes, der von einem Chromatinnetz durchsetzt wird und mehrere Nukleolen einschliesst.

Ein anderer eklatanter Fall von Zell- und Kernhypertrophie und hier auch Zellvermehrung unter dem Einfluss von Microsporidien ist von Mrázek bei oligochaeten Würmern aufgefunden worden. Bereits im Jahre 1897 hatte er bei Limnodrilus frei in der Leibeshöhle flottierende Zellen mit grossen bläschenförmigen Kernen entdeckt, die in grosser Menge Entwicklungsstadien einer Microsporidie enthielten. Er hatte damals den Plasmakörper und die grossen Kerne gleichfalls zur Microsporidie gerechnet und somit das ganze als einen einzigen Organismus aufgefasst, der durch innere

Knospung Sporen erzeuge. Die weiteren Untersuchungen an Limnodrilus und anderen Tubificiden führten jedoch Mrázek (1910) zu dem wichtigen Resultat, dass es sich auch hier um eine hypertrophische Wirtszelle mit intrazellulären Microsporidien handelt und zwar liess sich in manchen Fällen, namentlich bei Potamothrix, der sichere Beweis erbringen, dass es Leukozyten sind, die unter dem Reiz der in sie eingedrungenen Keime sich lebhaft vermehren und darauf hypertrophieren. Namentlich der bläschenförmige Kern vergrössert sich beträchtlich und zerschnürt sich schliesslich in mehrere Fragmente. Gleichzeitig vermehren sich die Parasiten und erfüllen schliesslich das ganze Plasma.

Den bei Lophius piscatorius und den Oligochaeten beobachteten besonders prägnanten Beispielen einer Zell- und Kernhypertrophie unter dem Einfluss von Microsporidien schliessen sich noch eine Reihe Befunde anderer Autoren an. So beschrieb bereits 1892 Korotneff eine Vergrösserung der Kerne in Spermatoblasten der Bryozoe Alcyonella fungosa, die durch Microsporidien — eine Nosemaart — infiziert waren. 1905 beobachtete Schröder bei der Untersuchung einer zur Gattung Thélohania gehörigen Microsporidienart, die in einem Oligochaeten der Gattung Chaetogaster schmarotzt, eine Vergrösserung der Wirtszellenkerne und ihr Erhaltenbleiben in den Microsporidiencysten. Auch hier kommt es zu lebhafter amitotischer Vermehrung der Kerne.

Grosse gelappte und verzweigte Wirtszellenkerne innerhalb von Microsporidienmassen beschrieb schliesslich 1910 Schuberg im Hoden der Barbe bei der Infektion durch die Microsporidie Plistophora longifilis. Die Hodenkanälchen erfahren hier durch die Entwicklung der Parasiten eine beträchtliche Anschwellung. Das Querschnittsbild eines infizierten Kanälchens kann dabei das Achtfache der Grösse eines normalen Kanälchens erreichen.

Durch den allmählichen Übergang der Kerne normaler Hodenepithelzellen in die bläschenförmigen Riesenkerne, die sich in Menge zwischen den Parasitenhaufen finden, konnte Schuberg den sicheren Nachweis führen, dass auch hier ein Fall von Hypertrophie des Wirtsgewebes unter dem Reiz von Microsporidien statthat. Von besonderem Interesse ist die Beobachtung Schubergs, dass nicht nur die Wirtszellen selber, sondern auch die benachbarten nicht infizierten Zellen eine Vergrösserung ihrer Kerne erfahren.

In allen bisher besprochenen Fällen stellen die Microsporidien kleine, nur wenige μ erreichende einkernige Elemente dar, die sich als intrazelluläre Parasiten durch Teilung vermehren und darauf entweder direkt (Gattung Nosema) oder nach Einschaltung einer Sporonten-Generation (Thélohania und Plistophora) Sporen liefern. Die Sporonten pflegen zwar meist zu vielkernigen Zellen heranzuwachsen, doch bleibt auch in diesen Zell- und Kerngrösse nur eine sehr geringe.

In schroffem Gegensatz hierzu steht die Beschreibung, die Stempell im Jahre 1904 von Glugea anomala, einer im Stichling umfangreiche Cystengeschwülste hervorrufenden Microsporidie gab. Seiner Überzeugung nach repräsentiert hier die ganze, oft einen Durchmesser von mehreren Millimetern erreichende Cyste ein einziges grosses Protozoenindividuum. Dasselbe besitzt somit wie manche Myxosporidien einen Protoplasmakörper von makroskopischer Grösse. In ihm finden sich ausser Millionen von Sporen und Sporenentwicklungsstadien Tausende von Kernen, die eine verschiedene Grösse besitzen. Neben kleinen Kernen von kompakter Struktur treten grosse bläschenförmige Kerne auf, die einen Durchmesser von 10 μ und mehr erreichen können.

Wie eine Reihe von Abbildungen Stempells demonstrieren, heben sie sich durch ihre helle Grundfärbung und eine deutliche Kernmembran sehr deutlich vom Protoplasma ab. Die färbbare Kernsubstanz ist in ihnen, wie Stempell beschreibt, teils an der Kernmembran, teils an einem im Innern des Kernes ausgespannten grobmaschigen Netzwerk von Fäden angeordnet, teils bildet sie auch im Zentrum der Kerne eine grössere kompakte Masse. Die Kerne vermehren sich amitotisch und stellen, wenn die Teilungen unvollständig bleiben, oft rosenkranzförmige Gebilde dar.

Diese Kerne erinnern in ihrem Bau zweifellos sehr an bläschenförmige Metazoenkerne, sie werden jedoch ebenso wie die kompakten kleinen Kerne von Stempell als Microsporidienkerne gedeutet. Im Gegensatz zu den Kernen der sporenbildenden Zellen, die Stempell als die Geschlechtsgeneration auffasst, bezeichnet er sie als die „vegetativen Kerne“ der Cyste.

Dass es sich hier tatsächlich um Protozoenkerne handelt und die gesamte Cyste wirklich einen grossen Protozoenplasmakörper und nicht etwa eine hypertrophische Wirtszelle mit eingelagerten Microsporidien darstellt, dafür führt Stempell hauptsächlich vier

Gründe an. Er beruft sich zunächst auf das einheitliche Aussehen, das das Cystenplasma darbietet. Ein zweites Argument besteht darin, dass rings um die Cyste eine dicke, kernlose Eigenmembran herumgeht, die sich deutlich von der weiter nach aussen folgenden Bindegewebshülle absetzt. Eine dritte Stütze für seine Ansicht erblickt Stempell in dem Aussehen von Jugendstadien der Cysten, die nach seiner Beschreibung einen einheitlichen Plasmakörper und kleine kompakte Kerne besitzen. Vor allem aber sollen nach Stempell die Kerne der Sporontenzellen, die sich unmittelbar oder nach Teilungen in Sporen umwandeln, direkt von den vegetativen Kernen abstammen.

Von den angeführten Argumenten würden zweifellos die beiden letzten am meisten ins Gewicht fallen. Der Befund der Jugendstadien verliert jedoch an Beweiskraft erheblich dadurch, dass er sich auf altes nur mit vierprozentigem Formalin konserviertes Material bezieht, dessen Erhaltungszustand die Beobachtung feinerer Einzelheiten unmöglich machte. Somit bliebe als wichtigste Stütze für die Stempellsche Auffassung die von ihm behauptete direkte Abstammung der Kerne der Sporonten von den vegetativen Kernen. Liesse sich dieselbe wirklich nachweisen, so könnte an der Zugehörigkeit der vegetativen Kerne zum Protozoon allerdings nicht der geringste Zweifel mehr bestehen.

Jedoch gerade für diesen wichtigsten Punkt kann Stempell keine beweiskräftigen Beobachtungen anführen. Die jungen Sporonten besitzen nach ihm einen zarten Plasmakörper mit einem nur schwer färbbaren Kern, der ein feines Gerüstwerk, jedoch kein Karyosom aufweist. Sie liegen in einer Flüssigkeitsvakuole, die häufig unmittelbar an einen der grossen bläschenförmigen vegetativen Kerne grenzt „und seine direkte Fortsetzung zu bilden scheint“. Aus dieser topographischen Beziehung schliesst Stempell auf eine genetische und überbrückt den offenbaren Gegensatz in der Struktur der Sporonten und des vegetativen Kernes durch die Annahme, dass der vegetative Kern bei der Umwandlung in den Kern des Sporonten sein Karyosom ausstosse oder dass dieses als Restkörper zurückbleibe. In anderen Fällen nimmt Stempell eine Auflockerung resp. Umgestaltung des Karyosoms an. „Man hat bei der Beobachtung vieler Stellen den Eindruck“ — bemerkt Stempell — „als ob die vegetativen Kerne sich geradezu in Sporonten umwandeln, wobei der karyosom-

artige Körper und die anderen stark färbbaren Körnchen am Aufbau des Sporontenkernes mehr oder minder direkt beteiligt sind. Die Herkunft des Sporontenplasmas ist dabei schwer zu ermitteln, doch ist seine Entstehung aus Bestandteilen der vegetativen Kerne nicht von der Hand zu weisen."

Erscheint angesichts der nicht unbeträchtlichen Strukturdifferenz zwischen den vegetativen Kernen und den Sporonten Stempells der von Stempell behauptete Übergang schon fraglich, so kann vor allem die Sporontennatur der betreffenden Elemente keineswegs als sichergestellt gelten. Sie sollen durch multiple Teilung in die sporenbildenden Zellen (Sporoblasten) zerfallen, in anderen Fällen aber auch direkt in eine Spore übergehen können. Figuren, die den Zerfall der Sporonten in Sporoblasten einwandsfrei demonstrieren, gibt Stempell jedoch nicht.

Somit scheint gerade der wichtigste Punkt in der Beweisführung der Protozoennatur der Glugeacysten nur schwach gestützt zu sein. Es ist daher nicht zu verwundern, dass Schröder, Schuberg und Mrázek sich skeptisch über die Deutung Stempells aussprachen, als sie in den folgenden Jahren bezüglich des Verhaltens von Microsporidien und Wirtszellen zu ihren ganz abweichenden Resultaten kamen. Da sie für ihre Objekte den sicheren Nachweis liefern konnten, dass die grossen Kerne nichts anderes als hypertrophische Wirtszellenkerne darstellen, so hielten sie die Auffassung Stemmpells für verfehlt und es für sehr wahrscheinlich, dass auch bei Glugea anomala die grossen bläschenförmigen Kerne von hypertrophischen Wirtszellen abzuleiten seien.

Andererseits ist Pérez 1905 bei der Untersuchung der Microsporidie Glugea stempelli, die in Balanus amaryllis Cysten bildet, zu Resultaten gelangt, die er ganz im Sinne Stempells deutet. Ebenso hat Woodcock sich auf den Boden der Stempellschen Auffassung gestellt.

Unter diesen Umständen erschien mir bei dem grossen biologischen Interesse, das die Frage der Hypertrophie der Wirtszellen unter dem Einfluss der Microsporidien bietet, eine neue Untersuchung der von Stempell studierten eigentümlichen Microsporidie des Stichlings wünschenswert, um so mehr, als auch in der Morphologie der Sporen und der Sporenentwicklung vieles unaufgeklärt schien. Nachdem ich im Sommer 1911 mit der Untersuchung von Glugea anomala begonnen hatte, erschien im

September 1911 eine kurze Mitteilung von Awerinzew und Fermor über das gleiche Thema, in der sie zu einer vollständigen Bestätigung der Ansichten Stempells gelangten.

Insbesondere sind die beiden russischen Autoren der Meinung, den von Stempell vermuteten Ursprung der Sporonten aus den vegetativen Kernen direkt beobachtet zu haben. Allerdings kann aus den beigefügten Textfiguren nicht entnommen werden, dass Awerinzew und Fermor wirklich die so ausserordentlich metazoenkernähnlichen grossen bläschenförmigen Kerne, die Stempell beschrieb, vor Augen hatten. Ihren Abbildungen nach besitzen die Kerne eine dichte Chromatinstruktur, kein Karyosom und sind erheblich kleiner. Ebenso entsprechen die Sporonten der russischen Autoren offenbar nicht den Sporonten Stempells, sondern ihren Teilungsprodukten, den Sporoblasten. Man wird daher nicht von einer Bestätigung der Angaben Stempells sprechen können, sondern von der Beobachtung, dass Sporoblasten aus relativ kleinen chromatinreichen Kernen hervorgehen, die als die vegetativen Kerne des Plasmakörpers aufgefasst werden. Jedoch auch in dieser Form würden die Befunde von Awerinzew und Fermor ein gewichtiges Indizium für die Protozoennatur der Cysten von Glugea anomala bilden.

Die Umwandlung der vegetativen Kerne in die Sporoblasten vollzieht sich nach Awerinzew und Fermor in sehr eigentümlicher Weise. Wie ihre Abbildungen demonstrieren, beginnt der Kern an einem Ende stark in die Länge zu wachsen. Unter Zerfall seines Chromatins in einzelne Abschnitte verlängert er sich hier in ein chromatinarmes wurstförmiges Gebilde, das sich allmählich in eine Protoplasmamasse mit Chromatineinschlüssen umwandelt. Das andere Ende dagegen behält noch die typische Kernstruktur bei. Die Chromatineinschlüsse der Plasmamasse werden dann unter Auftreten eines hellen Hofes in ihrer Umgebung zu sekundären Kernen, den Kernen der Sporonten. Diese teilen sich noch einmal und nun beginnen die vielkernigen wurstförmigen Gebilde in so viele Zellen zu zerfallen, als sie Kerne enthalten. Eine jede derartige Zelle gibt einem Sporonten den Ursprung, welcher sich allmählich in eine Spore umwandelt.

Nicht alle Kerne erfahren die eigentümlichen Umwandlungsprozesse in sporenbildende Zellen, sondern die kleineren von ihnen bleiben als vegetative Kerne erhalten. Somit kommen

Awerinzew und Fermor zu demselben Resultat wie Stempell, dass Glugea anomala einen vielkernigen Plasmakörper von makroskopischer Grösse besitzt.

Auch Stempell selbst hatte auf die Kritik Schubergs und Mrázeks hin im Jahre 1910 mit Bestimmtheit seinen Standpunkt aufrecht erhalten, jedoch neue Tatsachen nicht beigebracht.

II. Material und Methoden.

Das Material, das zu der vorliegenden Untersuchung diente, bezieht sich zu einem grossen Teile auf Glugea anomala Monz., den Parasiten des Stichlings, also dieselbe Art, die auch Stempell und Awerinzew und Fermor studierten. Der Parasit tritt sowohl bei der Süsswasser- wie bei der Seewasserform von Gasterosteus aculeatus auf. Mein Material besteht teils aus Süsswasserstichlingen der Umgebung Berlins, teils aus Ostseestichlingen.[1]) Ein grosser Teil wurde in Lietzow auf Rügen in den Bodden, die Ausbuchtungen der Ostsee sind, gefangen. Irgend ein Unterschied im Verhalten der Ostsee- und der Süsswasserparasiten war nicht zu konstatieren. Die Form der Sporen ist eine plump ovale. Der eine Pol ist etwas schmäler als der andere. Die Länge beträgt meist 3,5 μ, die Breite durchschnittlich 2,3 μ. Die Zahl der gesammelten infizierten Fische dürfte sich auf 50 belaufen, auf Schnitten wurden 15 möglichst junge Fälle untersucht.

Eine sehr wertvolle Bereicherung erfuhr das Material dadurch, dass ich während eines Aufenthaltes in Lietzow noch eine zweite anomala sehr nahe stehende Glugeaart im Stint (Osmerus eperlanus) auffand. Während beim Stichling die Cystengeschwülste sich meist auf einzelne Knoten beschränken, sind die infizierten Stinte häufiger von einer sehr grossen Zahl von Cysten durchsetzt. Die ungemein zarte Beschaffenheit der Haut des Stintes, die selbst bei zirka 10 cm langen Exemplaren innere Organe, z. B. das Gehirn, deutlich durchschimmern lässt, ermöglicht es, die weissen Glugeacysten, auch wenn sie nicht in der Haut, sondern in der Leibeshöhle sitzen, bereits am unverletzten Fisch zu erkennen. Da zum Bestecken der Aalangel täglich viele Tausende von Stinten in Lietzow gefangen werden, so lässt sich in kurzer

[1]) Allen denen, die mich bei der Beschaffung des Materiales freundlichst unterstützten, spreche ich auch an dieser Stelle meinen herzlichen Dank aus, ganz besonders Herrn Eduard Wothke in Lietzow.

Zeit ein grosses Material sammeln, trotzdem die Erkrankung an und für sich nicht sehr häufig ist, sondern nur etwa in 1—2 Prozent der Fälle auftritt.

1911 habe ich die Art als Glugea hertwigi kurz beschrieben. Die Sporen unterscheiden sich von den von Glugea anomala durch ihre grössere Länge, die sich zur Länge von anomala wie 4:3 verhält, während der grösste Breitendurchmesser etwa der gleiche wie bei jener Art ist. Am spitzen Pol sind die Hertwigisporen schmäler, so dass sie gegenüber der stumpf ovalen Form von anomala im ganzen mehr gestreckt birnförmig erscheinen. Die absoluten Maße betragen bei Glugea hertwigi meist 4,6—5,4 $\mu \times 2,3 \mu$. Präpariert und für frische Untersuchungen verwandt wurden an 100 infizierte Stinte, geschnitten 14 verschiedene Fälle.

Von dem Anfertigen von Ausstrichen bin ich bald zugunsten der Schnittmethode abgekommen. Die Reihenfolge der Entwicklungsstadien in den Cysten kann nur richtig beurteilt werden, wenn der topographische Zusammenhang gewahrt bleibt. Fixationstechnisch wäre zu bemerken, dass die noch nicht von einer Sporenhülle umgebenen Entwicklungsstadien der Parasiten ungemein schwierig zu konservieren sind — eine Erfahrung, die auch schon bei der Untersuchung von Nosema lophii gemacht wurde. Nur Flemmingsche Flüssigkeit gibt hier gute Resultate. Die beschalten Formen und grossen Kerne können auch durch zehnprozentiges Formalin gut konserviert werden.

Präparate, die mit Alkohol-Eisessig[1]) und Sublimat-Alkohol-Eisessig[2]) konserviert wurden, entfernen sich zweifellos mehr von den im Leben zu beobachtenden Verhältnissen. Doch haben diese Methoden den grossen Vorzug, gute Giemsa- und Biondifärbungen zu ermöglichen. Für den Nachweis des Kernes in den Sporen leistete mir weniger die von Schuberg angegebene Modifikation der Giemsafärbung als die Biondimethode in der Vorschrift von Rudolf Krause[3]) gute Dienste. Nach Formolkonservierung bewährte sich Delafieldsches Hämatoxylin. Die Flemmingpräparate wurden meist mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, bisweilen auch mit Safranin-Lichtgrün gefärbt.

[1]) Absoluter Alkohol 95 Teile + Eisessig 5 Teile (nach Schuberg 1909).

[2]) Konzentr. wässr. Sublimatlösung 22 Teile + absoluter Alkohol 10 Teile + Eisessig 1 Teil (nach Schaudinn).

[3]) Rudolf Krause: Kursus der normalen Histologie. Berlin 1911, pag. 78.

III. Der Bau der Cysten von Glugea anomala und hertwigi.

Sehe ich von den jüngsten Fällen ab, die eine gesonderte Betrachtung erfordern, so herrscht im Habitusbild der Cysten eine grosse Gleichartigkeit vor. Die Form ist meist kugelig oder eiförmig. Wenn Cysten dicht zusammen liegen, so platten sie sich häufig an den Berührungsflächen ab. Die Cysten können einen Durchmesser von 3 bis 4 mm erreichen.

Eine intrazelluläre Lage in hypertrophischen Wirtszellen, wie sie oben für die in Riesenganglienzellen eingelagerten Cysten von Nosema lophii beschrieben wurde, kommt bei den Stichlings- und Stintcysten nie zur Beobachtung. Stets werden sie unmittelbar von einer Kapsel von konzentrisch geschichtetem kleinzelligem Bindegewebe umgeben. In der Kapsel breitet sich ein dichtes Kapillarnetz aus, das für die Ernährung der Cysten zweifellos von grosser Bedeutung ist.

Die Cystenwand selber wird zu äusserst von einer gegen das Bindegewebe scharf abgesetzten Eigenmembran gebildet, die von Stempell bereits genauer beschrieben wurde. Es handelt sich um eine kernlose Membran von starkem Lichtbrechungsvermögen, die den Eindruck einer Kutikula macht. Sie erscheint bald ganz homogen, bald aus übereinander geschichteten Lamellen zusammengesetzt. Ihre Dicke nimmt mit Grösse und Alter der Cysten zu. Bei gleichem Cystendurchmesser ist sie beim Stichling immer erheblich stärker als beim Stint. So wurde in Anomala-Cysten von 2 mm Durchmesser eine Membrandicke von 15 μ festgestellt. In ebenso grossen Cysten von Glugea hertwigi beträgt die Membrandicke nur 2 μ.

Die Angabe Stempells, dass die Membran sich mit Kernfarbstoffen ziemlich intensiv und nach Giemsa rot färbt, kann ich bestätigen. In Fig. 4 Taf. IV (cy) ist sie an einer Anomalacyste durch Hämatoxylin blau gefärbt und zwar haben die einzelnen Schichten den Farbstoff mit verschiedener Intensität angenommen. Am intensivsten ist die tiefste Lage gefärbt. Nach der Färbung mit Pikrofuchsin oder nach Calleja nimmt die Membran einen ähnlichen Farbenton an wie kollagenes Bindegewebe.

Die Cystenmembran liegt unmittelbar der plasmatischen Rindenschicht der Cyste auf. Dass sie aus dem Plasma als kutikulare Bildung entstanden und nicht vom Bindegewebe der Um-

gebung abzuleiten ist, darauf weisen unregelmässige Verdickungen auf der Innenfläche der Cystenmembran hin, die sich stellenweise weit in die Plasmarinde hinein erstrecken und bereits von Stempell genauer beschrieben wurden.

Innerhalb der Cystenmembran folgt der Plasmakörper der Cyste, in dessen Bau ein auf Taf. IV, Fig. 2, dargestellter Schnitt durch eine junge Stintcyste einen Einblick gewährt. Wie die Figur zeigt, ist nur die schmale Rindenschicht (p) von solidem Bau. Weiter nach innen schliesst das Plasma zahlreiche Flüssigkeitsvakuolen (v) ein und diese konfluieren dann zu einem grossen zentralen Hohlraum, in den nur noch schmale Plasmasepten hineinragen. In den Vakuolen der Plasmarinde finden sich Sporenentwicklungsstadien und junge Sporen, im zentralen Hohlraum Millionen von reifen Sporen. Die in dem Präparat angewandte kurze Delafield-Färbung lässt bei der schwachen Vergrösserung die Sporen nicht hervortreten. Daher scheinen hier die Flüssigkeitsvakuolen leer zu sein. Nur bei e ist in der Zeichnung die Einlagerung von Sporen durch dunkle Pünktchen markiert worden. Um so deutlicher tritt der fächerige Bau des Plasmakörpers hervor. Je grösser die Cyste wird, um so mehr erscheint die Plasmarinde auf einen schmalen Streifen reduziert. In ganz alten Cysten fehlt sie vollkommen und diese bestehen dann fast nur aus Sporen.

Die Struktur des Plasmas variiert etwas. Bald erscheint dasselbe fein granuliert, bald von wabigem Bau. Im Gegensatz zu der ganz homogenen Cystengrundsubstanz von Nosema lophii handelt es sich hier jedenfalls um unverändertes typisches Protoplasma.

Im Plasmakörper finden sich erstens eine grosse Menge der mannigfaltigsten Stadien der Sporenbildung, die später an der Hand von Flemming-Präparaten eingehend geschildert werden sollen. (Bei der schwachen Vergrösserung der Fig. 2 und der angewandten Formolfixation sind sie nicht deutlich zu erkennen.) Zweitens aber ist in das Plasma eine beträchtliche Zahl von Kernen eingelagert, die die Bindegewebskerne der Umgebung an Grösse erheblich übertreffen und sich in dem Übersichtsbild in Fig. 2 als dunkelblaue Scheiben (k) deutlich markieren. Sie entsprechen zweifellos den grossen vegetativen Kernen Stempells. In Fig. 4, Taf. IV, sind sie bei starker Vergrösserung von anomala abgebildet (k). Ihre Struktur entspricht genau der von Stempell

gegebenen Beschreibung. Es sind Kerne von ausgesprochen bläschenförmigem Typus. Durch eine sich intensiv mit Kernfarbstoffen tingierende Membran sind sie aufs schärfste gegen das Plasma abgesetzt. Ihr Inhalt erscheint heller und wird von Chromatinkörnchen durchsetzt, die einem weitmaschigen Liningerüst aufgelagert sind. Am auffallendsten sind jedoch ein oder mehrere grosse Nukleolen in den Kernen. Dass es sich hier um echte Nukleolen handelt, beweist die Biondi-Färbung, die sie im Gegensatz zu den das Methylgrün annehmenden Chromatinkörnchen deutlich rot färbt. Der Durchmesser der Kerne kann 20 μ und mehr erreichen. Ihre Zahl scheint sich durch Durchschnürung zu vermehren.

Die entsprechenden Kerne der hertwigi-Cysten sind aus einer jungen Cyste, die wie die in Fig. 2 abgebildete einen Durchmesser von etwa 500 μ besitzt, in Fig. 5 in annähernd gleicher Vergrösserung dargestellt. Ihre Struktur unterscheidet sich in zwei Punkten von der der Kerne der Stichlingscysten. Die Nukleolen sind im allgemeinen erheblich kleiner, das Netzwerk dagegen viel engmaschiger.

In den jungen Stintcysten sind die Kerne in lebhafter amitotischer Vermehrung begriffen. Wie Fig. 5 demonstriert, entstehen durch Einschnürung gelappte Kernformen (k) oder Bilder, bei denen, wie z. B. bei a, einem grossen kugeligen Kern kleine Kerne wie Knospen aufsitzen. Auch wenn die Tochterkerne auseinanderrücken, scheint es nicht immer sogleich zu einer völligen Abschnürung zu kommen, sondern sich eine Zeitlang eine Verbindungsbrücke in Gestalt eines sich intensiv mit Kernfarbstoffen tingierenden Fadens zu erhalten (Fig. 5 bei b und c).

Sowohl in den Stichlings- wie in den Stintcysten liegen die Kerne häufig den mit Sporoblasten gefüllten Vakuolen unmittelbar an. Auch im Plasma finden sich in ihrer nächsten Nähe unzweifelhafte Microsporidienstadien. Von einem genetischen Zusammenhang, von einer Umwandlung oder einem Übergang der Kerne in sie habe ich mich jedoch in keinem einzigen Falle überzeugen können. Meine Befunde stehen hier in vollstem Gegensatz zu der Ansicht Stempells und den Befunden von Awerinzew und Fermor.

Durch das Erscheinen der Mitteilung der russischen Autoren veranlasst, habe ich das abweichende Ergebnis im Oktober 1911

in einer vorläufigen Mitteilung hervorgehoben, bei dieser Gelegenheit jedoch auch bemerkt, dass ein negativer Befund in dieser Beziehung noch nicht gegen die Möglichkeit einer Protozoenableitung überhaupt beweisend ist.

Der Schilderung des normalen Baues der Cysten müssen noch einige Worte über regressive Prozesse in ihnen hinzugefügt werden. Bisweilen trifft man sowohl ausgewachsene wie kleine Cysten an, deren Cystenmembran nicht mehr intakt ist, sondern Unterbrechungen zeigt oder sich nur noch in Trümmern nachweisen lässt. Es handelt sich dann stets um im Zerfall begriffene Cysten, in die das kleinzellige Wirtsgewebe zerstörend eindringt. Bald lassen sich Wanderzellen mit bläschenförmigen Kernen inmitten der Sporenansammlungen nachweisen und an günstigen Stellen kann man erkennen, dass ein Teil der Sporen durch Phagozytose in sie aufgenommen worden ist. Es liegen hier sehr ähnliche Verhältnisse vor, wie sie beim Zerfall junger Cysten von Nosema lophii im Innern derselben angetroffen werden. Auch dort unterliegt es keinem Zweifel, dass die kleinen bläschenförmigen Kerne inmitten der Sporenmassen zu eingedrungenen Wirtszellen gehören.

Zu einer ganz anderen Auffassung ist Stempell gelangt. Nach ihm sollen sich in solchen Cysten sehr eigentümliche Bildungsprozesse abspielen. Die grossen vegetativen Kerne sind in ihnen bereits früher in kleine Körnchen („Chromiolen“) zerfallen. Wenn nun die Cystenmembran zugrunde geht, so zerfällt die Plasmarinde in kugelige Stücke, die Chromiolen einschliessen. Unter dem Einfluss des unmittelbaren Kontaktes mit den Säften des Wirtsgewebes soll es nun in den Plasmakugeln zu einer Rekonstruktion bläschenförmiger vegetativer Kerne aus den Chromiolen kommen. Wie die vegetativen Kerne des Mutterorganismus, so sollen auch die neu entstandenen Kerne direkt Sporonten aus sich hervorgehen lassen. Auf diese Weise soll es zu einer sekundären Sporenbildung in den kleinen Plasmakugeln kommen können. Stempell bildet hierzu eine Anzahl Figuren ab, die einen Haufen Sporen oder Sporenbildungsstadien von einer Plasmaschale umgeben zeigen, in der sich ein kleiner bläschenförmiger Kern befindet.

Es kann keinem Zweifel unterliegen, dass es sich hier um dieselben Objekte handelt, die von mir als sporenerfüllte Phagozyten aufgefasst werden. Auch Stempell erwähnt die Ähnlichkeit mit Leukozyten und den bei Nosema lophii beschriebenen

Verhältnissen, hält jedoch seine Auffassung angesichts der Rekonstruktion der bläschenförmigen Kerne aus Chromiolen für unanfechtbar und vermutet, dass auch bei Nosema lophii die Bilder in seinem Sinne gedeutet werden müssen. Von dem eigentümtümlichen Vorgang einer Reorganisation typischer bläschenförmiger Kerne aus Chromiolen habe ich mich jedoch noch nie überzeugen können.

Zusammenfassung.

Die Hauptresultate der histologischen Untersuchung ausgebildeter Cysten können in folgenden Sätzen zusammengefasst werden:

Die Cysten von Glugea anomala und hertwigi werden von einer Eigenmembran umgeben, die den Eindruck einer Kutikula macht. Unmittelbar um dieselbe folgt eine Bindegewebskapsel. Das Cystenplasma — hauptsächlich als Rindenschicht entwickelt — zeigt typische Protoplasmastruktur. In der Plasmarinde kommen neben Sporenentwicklungsstadien in Menge grosse bläschenförmige Kerne vor, die in ihrem Bau an Metazoenkerne erinnern und sich amitotisch vermehren. Eine Umwandlung derselben in Sporenbildungszellen findet entgegen der Lehre von Stempell, Awerinzew und Fermor nicht statt. Dieser negative Befund kann jedoch nicht als Beweis gegen die Möglichkeit einer Protozoenableitung der Kerne überhaupt angesehen werden.

IV. Zur Pathologie der Glugeaerkrankung.

Vergleicht man die Grösse, die die Cysten von Glugea anomala und hertwigi erreichen, mit den bei anderen Microsporidien beobachteten Verhältnissen, so muss sie als eine ausserordentliche bezeichnet werden. Denn während zum Beispiel die Cysten von Nosema lophii im allgemeinen nur selten einen Durchmesser von 2 mm erreichen, sind bei den beiden Glugeaarten Cysten von 3 und 4 mm Durchmesser keine Seltenheit. Haben die Cysten in der Haut ihren Sitz, so bedingen sie bei dieser beträchtlichen Grösse eine erhebliche Deformation des Fisches. Sie verursachen beulenartige Auftreibungen, die meist einen silberweissen Glanz aufweisen und daher weithin durch das Wasser leuchten. Meist sitzen die Knoten den Fischen mit breiter Basis auf, seltener erscheinen sie gestielt.

Entwickeln sich die Cysten in der Leibeshöhle, so können sie eine starke Auftreibung des Leibes bewirken. Fig. 3 auf

Taf. IV zeigt an einem jungen, 4 cm langen Stichling auf dem Querschnittsbild fast die ganze Leibeshöhle von einer grossen anomala-Cyste (c) eingenommen. Das Ovarium (o) und der Darm (d) sind hier ganz an die Wand gedrückt, und die Cyste erreicht mit einem Durchmesser von 3 mm fast die gleiche Flächenausdehnung wie der ganze übrige Teil des Querschnittes.

Abgesehen von ihrer beträchtlicheren Grösse unterscheiden sich die Glugeacysten von den Cysten von Nosema lophii sehr wesentlich dadurch, dass sie nicht an ein bestimmtes Organsystem gebunden sind. Während dort ohne Ausnahme stets die ganglienzellenhaltigen Teile des Nervensystems die Träger der Infektion sind, finden sich die Cysten von Glugea anomala und hertwigi bald im Bindegewebe der Haut, bald in der Substantia propria der Cornea, in der Wand des Darmes wie in der Leber, im Bindegewebe des Ovariums, wie des Hodens. Bei grossen Leibeshöhlencysten lässt sich ihr ursprünglicher Sitz oft nur vermutungsweise bestimmen. Die in Fig. 3 abgebildete ist zum Beispiel sowohl mit der Darmwand als auch ventralwärts mit dem parietalen Peritonealblatt verlötet.

Auch in den einzelnen Organen ist der Sitz der Geschwülste ein sehr variabler, namentlich beim Stichling. In der Haut sitzen die Cysten bald am Kopf, bald an der Seiten- oder Bauchwand des Körpers. In anderen Fällen war die Wurzel der Schwanzflosse oder die Flossenhaut selber Träger der Cysten. Auch in der Wand der Kiemenhöhle unter dem Kiemendeckel verborgen, wurden einmal zwei anomala-Cysten gefunden.

Bei der Verbreitung der Hautcysten im Stint herrscht insofern eine grössere Regelmässigkeit vor, als hier die ventrale

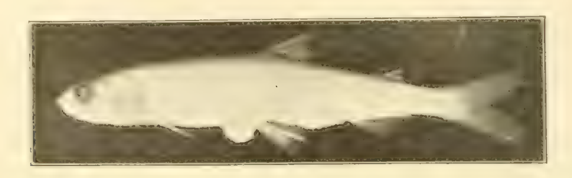


Fig. 1. Stint mit einer grossen Cyste von Glugea hertwigi in der Mitte der Bauchwand. Natürliche Grösse.

Kante des Fischkörpers eine Prädilektionsstelle für den Sitz der Geschwülste bildet (Textfig. 1 und 4). Wohl am häufigsten finden sich die Knoten hier in der Mitte des Fisches, doch können sie

auch bald mehr kopf-, bald mehr schwanzwärts in der Mittellinie der Bauchwand ihren Sitz haben.

Bei Nosema lophii kommen in der Regel nicht einzelne Cysten, sondern Konglomeratgeschwülste von zahlreichen Cysten zur Beobachtung. Bei Glugea anomala sind die Geschwulstknoten der Haut meist von einer einzigen Cyste gebildet. Treten mehrere Cysten auf, so haben sie in der Haut meist eine getrennte Lage. So zeigt der in Textfig. 2 dargestellte Fisch fünf isoliert liegende Cysten, zu denen auf der nicht abgebildeten Seite noch zwei hinzukommen.[1])



Fig. 2. Stichling mit zahlreichen Hautcysten von Glugea anomala. Natürliche Grösse.

Bei den im ganzen selteneren Fällen, in denen anomala-Cysten in der Leibeshöhle ihren Sitz haben, wird die Entwicklung mehrerer Cysten nebeneinander häufiger beobachtet.

Beim Stint ist der charakteristische Knoten der Bauchwand häufig von mehreren Cysten gebildet (Textfig. 4). Bald sitzen dieselben hier im subkutanen Bindegewebe, bald durchsetzen sie die Muskelschicht der Bauchwand in ihrer ganzen Dicke und wölben sich von dem silbern glänzenden Bauchfell überzogen in die Leibeshöhle vor. Auch in den inneren Organen pflegen die hertwigi-Cysten in weit grösserer Anzahl als die anomala-Cysten aufzutreten. Von ihrer reichen und mächtigen Entwicklung gibt das in Textfig. 3 dargestellte Präparat einen Begriff. Nach dem Abpräparien der seitlichen Bauchwand ist hier ein Konglomerat von Leibeshöhlencysten sichtbar, bei dem allein in der obersten Lage schon 33 Cysten gezählt werden. Die bis 3,5 mm grossen Cysten erfüllen hier die Leibeshöhle ähnlich wie grosse dotterreiche Eier einen laichreifen Fisch.[2])

[1]) Nur bei zwei grossen Stichlingen, die längere Zeit im Aquarium bei guter Ernährung gehalten waren, erwiesen sich die Hautknoten als aus mehreren kleinen Cysten zusammengesetzt.

[2]) Beim Stint selbst lässt sich übrigens dieser Vergleich nicht durchführen, da die reifen Stinteier nur eine winzige Grösse besitzen.

Das in Textfig. 3 abgebildete Präparat stellt jedoch noch keineswegs das Maximum in der Zahl der beobachteten Cysten dar. So werden im Hochsommer bisweilen Stinte von 6—7 cm Länge gefangen, deren Bauchwand und Eingeweide von vielen

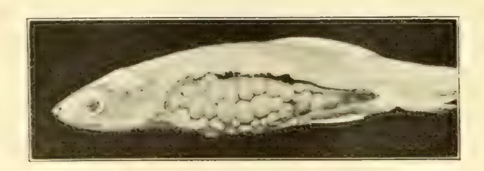


Fig. 3. Stint mit zahlreichen Cysten von Glugea hertwigi in der Leibeshöhle.

Hunderten kleiner Glugeacysten durchsetzt sind. Nur ein kleines Stück eines solchen Fisches ist in Fig. 1, Taf. IV, im Längsschnitt bei Lupenvergrösserung abgebildet. Trotzdem sind in der aus wenigen Schnitten kombinierten Zeichnung schon über 140 Cysten (c) zu erblicken, die teils in der Bauchwand (b), teils in grosser Menge subperitoneal oder in der Leibeshöhle liegen, gleichzeitig aber auch die Leber (l) durchsetzen und sich im Hoden (h) wie in der Magenwand (m) vorfinden.

Das Präparat ist noch in mannigfacher anderer Hinsicht von Interesse, so zunächst was die verschiedene Cystengrösse anbetrifft. Unter den zahlreichen kleinen Cysten, die auf medianen Schnitten einen Durchmesser von 300—600 μ besitzen, fällt in Fig. 1 sofort die dunkler gefärbte grosse Cyste (r) auf, die eine Länge von über 2 mm und eine Breite von über 1 mm erreicht. Nun ist zwar im Gegensatz zu den Befunden an Nosema lophii, die ohne Ausnahme in allen intakten Cysten eines Fisches denselben Entwicklungszustand und annähernd die gleiche Cystengrösse ergaben, bei dem multiplen Auftreten von Glugeacysten eine verschiedene Cystengrösse nichts Seltenes. So beträgt in Textfig. 2 der grösste Durchmesser der Hautknoten teils 4, teils nur 2 mm. In der grossen Cystengeschwulst des Stintes in Textfig. 3 kommen neben 3 bis 3,5 mm grossen Cysten sogar solche von nur 1 mm Durchmesser vor. Die genauere Untersuchung solcher Fälle auf Schnittpräparaten hat jedoch ergeben, dass es sich hier nicht um das Auftreten jüngerer Cysten neben älteren handelt, sondern dass die kleinen nur in der Entwicklung zurückgebliebene Formen darstellen, die vielleicht zufällig ungünstiger ernährt wurden.

Anders liegt es in dem in Fig. 1, Taf. IV, abgebildeten Falle, von dem ausgegangen wurde. Hier repräsentieren die kleinen Cysten zweifellos nicht verkümmerte, sondern in vollster Entwicklung begriffene Geschwülste. Stärkere Vergrösserungen (Fig. 2, Taf. IV) zeigen in ihnen eine deutlich entwickelte Plasmarinde mit zahlreichen Kernen und noch stärkere Linsen lassen alle Stadien der Sporenentwicklung und wie Fig. 5 demonstriert, eine lebhafte Knospung der grossen Kerne erkennen. Die grosse Cyste (r) der Fig. 1 dagegen ist ebenso unzweifelhaft als alte reife Cyste zu bezeichnen, die einen weiteren Zuwachs nicht mehr erfahren kann. Starke Vergrösserungen zeigen hier, dass Plasma und Kerne bereits vollkommen fehlen, und dass fast die ganze Cyste aus fertig ausgebildeten Sporen besteht. Mit dem grösseren Reifegrad derselben mag es auch zusammenhängen, dass sie sich nach Delafield viel leichter und intensiver als die in den kleinen Cysten gelegenen Sporen färben lassen. (Die grosse Cyste ist darum in Fig. 1 aus dunklen Körnchen aufgebaut, während die kleinen Cysten im Innern hell — gleichsam leer — erscheinen.[1]) Nach alledem kann man nicht umhin, hier entweder eine zweite selbständige Infektion anzunehmen oder an einen erneuten Ausbruch der Krankheit von einem alten Herde aus zu denken.

Bemerkenswert ist die Tatsache, dass so junge, z. T. kaum 300 μ messende Cysten lediglich im Juli in den Stinten gefunden werden. Mit dem Fortschreiten der Jahreszeit nimmt die Cystengrösse zu (Textfig. 4). Im September kann sie bereits einen Durchmesser von

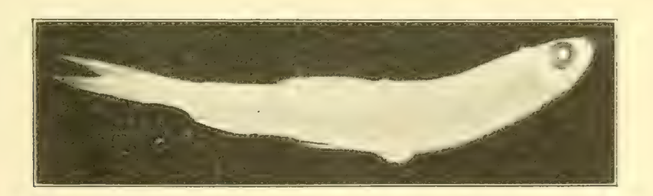


Fig. 4.
Stint im Hochsommer gefangen mit einer Geschwulst in der Mitte der Bauchwand, die aus zahlreichen jungen Cysten von Glugea hertwigi besteht.

3—4 mm erreichen (Textfig. 1 und 3). Im Winter scheint ein weiteres Wachstum nicht zu erfolgen. Die im März gefangenen Fische

[1]) Vergleiche hierzu die Bemerkung Seite 92, Zeile 14.

zeigen etwa das gleiche Verhalten wie die im September beobachteten. Auch im Mai kommen noch lediglich grosse, fertig ausgebildete Cysten zur Beobachtung, bis dann im Juli überraschenderweise die ganz jungen Cysten neben den alten auftreten. Gleichzeitig werden kleine 3,5 cm lange Stinte mit relativ jungen Cysten ($^1/_2$—1 mm im Durchmesser) gefangen, junge Fische, die wahrscheinlich aus der Märzlaichperiode desselben Jahres stammen. Es wird die Aufgabe weiterer Untersuchungen sein, durch systematisches Sammeln der grossen Stinte vom Mai bis Juli festzustellen, ob von den vorjährigen Knoten neue Keime abgegeben werden und zu einer Weiterverbreitung der Infektion im Fischkörper führen oder ob sich zu dieser Jahreszeit nicht nur die ganz jungen Stinte zum ersten Male, sondern auch bereits erkrankte ältere Fische von neuem infizieren. Hinsichtlich der zuerst genannten Möglichkeit ist es von Interesse, dass das in Fig. 1, Taf. IV abgebildete Präparat nicht nur eine ganz reife aber intakte Cyste neben den jungen Cysten zeigt, sondern sich in ihrer Umgebung auch deutliche Trümmer zerfallener Cysten auffinden lassen. In der Nähe der reifen Cyste r bei s_1 und s_2, aber auch an anderen nicht abgebildeten Stellen finden sich in grosser Menge Sporen, die teils frei im Gewebe liegen, teils in Leukozyten aufgenommen sind.

Das Studium des in Fig. 1 abgebildeten Präparates ist schliesslich noch in anderer Hinsicht von wesentlichem Interesse. Die ungeheure Zahl der jungen Cysten und ihre Verbreitung in den verschiedensten Organen fordert naturgemäss zur Prüfung auf, ob überall prinzipiell das gleiche Bild der Cystenmembran, des Plasmas, der Kerne vorliegt. Unter dem Gesichtspunkt, dass es sich hier um Wirtszellen handle, die unter dem Reiz der intrazellulären Parasiten hypertrophisch geworden wären, könnte man in den einzelnen Organen ein recht verschiedenes Verhalten erwarten. Dies ist jedoch, wie eine genaue Untersuchung mit starken Vergrösserungen ergibt, keineswegs der Fall. Ob die Cysten, wie es Fig. 1 demonstriert, in der Leber (l), im Hoden (h), in der Magenwand (m), in der Muskelschicht der Bauchwand (b) oder subperitoneal gelegen sind, stets bieten sie in ihrem Aufbau und ihrer Abgrenzung gegen das Wirtsgewebe genau das gleiche Bild dar.

Der Versuch, die Cystengeschwülste auf hypertrophische Wirtszellen zurückzuführen, kann demnach überhaupt nur noch

unter zwei ganz bestimmten Voraussetzungen in Frage kommen. Entweder muss man annehmen. dass als Wirtszelle ein Element fungiert, das in allen Organen in gleicher Weise angetroffen wird, also entweder eine Bindegewebszelle oder ein Leukozyt, oder es bleibt nur noch die Möglichkeit übrig, dass von der hypertrophischen Wirtszelle eines Organes aus die Cysten der übrigen Organe als Metastasen entstanden sind. Tatsächliche Befunde, die als Stütze dieser Hypothese dienen könnten, haben sich jedoch in keinem der Präparate ergeben. Unter diesen Umständen wird die andere Auffassung, die in der ganzen Cyste einen einzigen grossen Parasiten erblickt, als die ungezwungenere erscheinen. Eine sichere Entscheidung aber darüber, welche von beiden Theorien zutrifft, kann nur eine Untersuchung der ersten Stadien der Infektion herbeiführen.

Zusammenfassung.

Die Cysten von Gl. anomala und hertwigi sind an kein bestimmtes Organ gebunden, sondern haben einen sehr variablen Sitz im Fischkörper. In den Cystenkonglomeraten weisen die einzelnen Cysten bisweilen einen ganz verschiedenen Alterszustand auf. Es ist in diesen Fällen entweder an eine zweite Infektion eines schon einmal erkrankten Fisches zu denken oder an ein Weitergreifen der Erkrankung von den alten Herden aus. Auftreten und Wachstum der Cysten zeigt beim Stint eine regelmässige Jahresperiode.

In welchem Organ die Cysten auch auftreten mögen, stets zeigen sie prinzipiell den gleichen Bau, insbesondere was Cystenmembran, Plasma und Kerne anbetrifft. Angesichts dieses Umstandes erscheint die Parasitentheorie der Cysten ungezwungener als der Versuch, sie auf hypertrophische Wirtszellen zurückzuführen.

V. Über Infektionsversuche an Stichlingen.

Eine Gelegenheit, die Jugendstadien der Erkrankung zu beobachten, die für die Auffassung der Cysten von entscheidender Bedeutung sind, musste sich am ehesten bei der Untersuchung ganz junger Fische oder bei Infektionsexperimenten bieten. Beim Stint gelang es bisher nicht, jüngere Fische als solche von 3 cm Länge zu erhalten. Offenbar halten sich die jungen aus der Märzlaichperiode stammenden Fische an anderen Stellen als die

grossen Stinte auf und gesellen sich erst im Juli allmählich zu ihren Schwärmen. Zu dieser Zeit sind sie bereits 3 bis 4 cm lang und, soweit infiziert, bereits mit Glugeacysten von $^1/_2$ bis 1 mm Durchmesser behaftet.

Viel günstiger liegen die Verhältnisse beim Stichling, dessen Laichperiode in den Mai bis Juli fällt. Aus dem süssen Wasser lassen sich junge Stichlinge leicht erhalten und sowie sie etwa 1 cm lang sind, auch ohne Schwierigkeit im Aquarium aufziehen. Ferner ist es beim Stichling möglich, künstliche Befruchtung zu erzielen und durch Aufzucht der Eier in reinem Wasser junge Fische zu erhalten, die sicherlich noch keine Glugeakeime in sich bergen.[1])

Zunächst wurde der Versuch gemacht, im Aquarium zum Ausschlüpfen gebrachte Stichlinge schon kurz nach Verlust des Dottersackes zu infizieren. Zu diesem Zweck wurden Sporen in feiner Emulsion im Wasser verteilt. Ausserdem wurden ausschliesslich kleine Copepoden und Daphniden als Futter verwandt, die zuvor in einer dicken Sporenemulsion den Darmkanal dicht mit Sporen angefüllt hatten. Es zeigte sich jedoch bald, dass bei dieser Ernährung die ausgeschlüpften Fischchen nur wenig an Grösse zunahmen und noch vor der Metamorphose, bei der an Stelle des zarten Flossensaumes die stachelige Rückenflosse erscheint, eingingen.

Unter diesen Umständen erwies es sich als zweckmässig, die Versuche erst auf einem etwas älteren Stadium zu beginnen und die jungen Stichlinge zunächst in Plankton zu kultivieren, das ihnen tierische und pflanzliche Nahrung der verschiedensten Art in reicher Fülle bot. Nachdem es auf diese Weise gelungen war, zwei junge Stichlinge zu lebhaftem Wachstum und zur Absolvierung der Metamorphose zu bringen, wurde dem Plankton täglich eine Sporenemulsion beigemischt. Drei Wochen nach Beginn des Versuches wurde an der Kehlhaut des einen Stichlings eine kleine gallertig durchsichtige Kugel bemerkt, die nur schwer

[1]) Von einem Übergang der Glugeainfektion auf die Eier des Stichlings habe ich mich nie überzeugen können, so dass die Möglichkeit einer Vererbung der Krankheit wohl kaum in Betracht gezogen zu werden braucht. Stempell gibt zwar an, infizierte Ovarialeier beobachtet zu haben. Doch wurde das Material bloss auf Ausstrichen, nicht auf Schnitten untersucht. Es ist daher nicht ganz ausgeschlossen, dass es sich nicht um erkrankte Eier, sondern um Cysten des Ovariums von der Grösse der Eier gehandelt hat.

im Wasser zu sehen war und bei ihrer Entdeckung bereits einen Durchmesser von etwa 300 μ besass. Auf Schnitten erwies sie sich als echte junge Glugeacyste mit noch sehr breiter Plasmarinde und kleinem zentralem Sporenraum. Somit war an einem vom Ei ab im Aquarium gezogenen Stichling die Möglichkeit einer experimentellen Infektion durch die Sporen nachgewiesen.

Der Erfolg ermutigte dazu, die Infektionsversuche in grösserem Maßstabe fortzusetzen. Allerdings konnten wegen der vorgeschrittenen Jahreszeit (August) nicht mehr künstlich gezüchtete Stichlinge als Versuchsobjekte dienen, sondern nur junge im Freien gefangene Fische, bei denen es sich nicht ausschliessen liess, ob sie nicht schon auf natürlichem Wege den Keim akquiriert hatten. Doch kam es zunächst ja nur darauf an, möglichst junge Stadien der Erkrankung — gleichviel ob durch natürliche oder künstliche Infektion entstanden — für die morphologische Untersuchung zu erhalten. 20 Stichlinge, die eine Länge von nicht ganz 2 cm besassen, als sie in meinen Besitz kamen, wurden in Wasser, dem häufig Sporenemulsionen beigemengt wurden, kultiviert. Bei vier Exemplaren traten 1 bis 3 Wochen nach Beginn der Versuche junge Glugeacysten auf. Dieselben hatten, als sie mit der Lupe entdeckt wurden, meist etwa einen Durchmesser von 250 μ. Gegenüber dem oft schneeweissen Aussehen älterer Cysten waren sie gallertig durchsichtig und nur in der Mitte etwas getrübt. Offenbar wird die weisse Farbe erst durch die Sporenansammlung bedingt.

Das Wachstum der Cysten ist zunächst ein sehr schnelles. So traten die jungen Cysten bei Fischen auf, die 2 Tage zuvor bei sorgfältiger Lupenuntersuchung noch keine Tumoren erkennen liessen. Um einen exakten Anhalt für die Wachstumsgeschwindigkeit zu gewinnen, wurde eine junge Glugeacyste 10 Tage lang im Leben beobachtet. Als sie aufgefunden wurde, erreichte sie im optischen Durchschnitt eine Länge von 750 μ und eine Breite von 600 μ. Als der Fisch nach 10 Tagen reichlicher Ernährung konserviert wurde, hatte die Cyste eine grösste Länge von 1500 μ und eine Breite von 1050 μ erreicht. Die Flächendimension des optischen Durchschnittes war also in zehn Tagen auf das 3,5 fache angewachsen.

Soweit aus den diesjährigen Versuchen ein Schluss gezogen werden kann, ist es am wahrscheinlichsten, dass die Infektion

durch den Darmkanal erfolgt, wie das für Nosema bombycis, den Erreger der Pébrinekrankheit, mit Sicherheit nachgewiesen ist (Stempell 1909). Der Versuch, junge oder alte Stichlinge subkutan mit Sporen zu impfen, führte zu keinem positiven Resultat. Ebenso misslangen Versuche, eine Infektion durch Injektion von Sporen in die Leibeshöhle zu erzielen.

Es ist möglich, dass die Sporen, um im Darm des Fisches infektionsfähig zu sein, erst eine Zeitlang im Wasser sich befinden oder von niederen Tieren aufgenommen werden müssen, die den Fischen als Nahrung dienen. Denn durch Verfütterung ganz frisch exzidierter Cysten an junge Stichlinge konnte eine Übertragung der Krankheit nicht erzielt werden. Den Infektionsmodus genauer festzustellen, wird die Aufgabe künftiger Untersuchungen sein. Insbesondere wird festgestellt werden müssen, ob unter der Einwirkung des Magen- oder Darmsaftes der Fische Amöboidkeime aus den Sporen ausschlüpfen.

Zusammenfassung.

Wie Experimente an im Aquarium aus dem Ei gezogenen Stichlingen beweisen, ist es möglich, bei jungen Fischen Cysten von Glugea anomala durch Beimengung von Sporen zum Aquariumwasser zu erzeugen. Die Sporen werden aller Wahrscheinlichkeit nach von den Fischen mit der Nahrung aufgenommen, so dass die Infektion vom Darmkanal aus erfolgt. Der Versuch, die Sporen subkutan einzuimpfen, hatte keinen Erfolg. Das Wachstum der Cysten ist ein sehr schnelles.

VI. Über den Bau eines Primärstadiums einer Glugea anomala-Cyste.

Was den Bau der bei den Infektionsversuchen erzielten jungen anomala-Cysten anbetrifft, so ergaben Schnitte durch die 250 μ grossen Cysten im Prinzip schon ähnliche Verhältnisse wie bei ausgewachsenen Cysten. Für die Entscheidung der Streitfrage, ob die ganze Cyste als Parasit aufzufassen ist oder ob sie zum Teil zum Wirtsgewebe gehört, erwiesen sich demnach auch die jungen Cysten als noch zu alt. Es musste sich somit darum handeln, in den jungen Stichlingen Stadien von noch mikroskopischer Kleinheit aufzufinden.

Bei dem sehr variablen Sitz der Cysten wäre hier die Schnittmethode eine sehr zeitraubende gewesen, da sie sich auf

das Anfertigen umfangreicher Serien hätte erstrecken müssen. Bei dieser Sachlage ist es als ein glücklicher Umstand zu begrüssen, dass die Cysten bisweilen auch in der zarten Flossenhaut, die sich zwischen den Flossenstrahlen ausspannt, ihren Sitz haben und somit an Stellen auftreten, die auch schon im Totalpräparat und im Leben der mikroskopischen Untersuchung zugänglich sind. Insbesondere ist die Schwanzflosse ein sehr geeignetes Untersuchungsobjekt. Bei zwei jungen Stichlingen war hier das Auftreten von Glugeacysten beobachtet worden. Daraufhin begann ich bei allen Fischen, die den Infektionsversuchen dienten, systematisch in Intervallen von wenigen Tagen mit dem Mikroskop die Flossenhaut abzusuchen.[1]) Dieser Methode allein ist das Auffinden eines Primärfalles zu verdanken, der wegen seiner Bedeutung für die Gesamtauffassung der Glugeageschwülste im folgenden Gegenstand einer eingehenden Beschreibung werden soll.

Der junge, 2 cm lange Stichling, bei dem am 19. August die Primärcyste entdeckt wurde, war seit dem 7. August in meinem Besitz. Ob er zu dieser Zeit bereits den Keim der Erkrankung in sich trug oder ob er künstlich durch die im Aquariumswasser verteilten anomala-Sporen infiziert wurde, muss ich dahingestellt lassen. Am 17. hatte die Lupenuntersuchung noch keinen besonderen Befund ergeben. Zwei Tage darauf wurde mit der Lupe zunächst oberhalb des rechten Kiemendeckels eine zarte Gallertcyste mit weisslichem Kern entdeckt, die schon einen Durchmesser von etwa 250 μ besass und sich auf dem Schnitt später als typische anomala-Cyste mit breiter plasmatischer Rinde und zentraler Sporenanhäufung erwies. Die auf diesen Befund hin besonders sorgfältig vorgenommene mikroskopische Untersuchung der Schwanzflossenhaut führte nun zur Entdeckung eines Primärstadiums einer Cyste, das bei eiförmiger Gestalt erst einen grössten Durchmesser von 80 μ aufwies und noch in allen Teilen gleichmässig durchsichtig war.

Dass es sich hier tatsächlich um nichts anderes als um einen ganz jungen Fall einer Cyste von Glugea anomala handelt, ergab die Untersuchung auf einer lückenlosen Schnittserie. Das genauere

[1]) Der Fisch wurde dabei durch einen Gummifaden auf einem Objektträger fixiert. Der Objektträger wurde dann schräg in eine Schale mit Wasser gestellt, so dass der Kopf des Fisches sich unter Wasser, die Schwanzflosse über Wasser befand.

Verhalten sei an einer Reihe von Zeichnungen (Fig. 6—10 auf Taf. V) illustriert.

Über den Sitz der jungen Cyste und das Verhalten zum Wirtsgewebe orientiert am besten Fig. 6, die bei 1000-facher Vergrösserung gezeichnet ist. Das Bild stellt ein Stück eines Längsschnittes durch die Flossenhaut dar. Die obere und untere Kante des Schnittes werden von dem die Schwanzflosse überziehenden Epithel eingenommen (ep). In der zarten Bindegewebsplatte, die sich zwischen den beiden Epithelmembranen ausbreitet, liegt die junge Cyste (c), die sich auf dem Schnitt als ovale Scheibe ganz scharf von der Umgebung absetzt. Um sie herum hat sich eine Reihe von Bindegewebszellen gelagert, die jedoch nirgends eine innigere Verbindung mit der Cystenwand eingehen, sondern stets ohne Mühe als ganz unabhängige Hüllzellen erkannt werden können.

Das Primärstadium der anomala-Cyste stellt sich nicht nur auf den Randschnitten (Fig. 6 und 8) als vielkerniger solider Plasmakörper dar, sondern auch auf medianen Schnitten (Fig. 10) ist noch nichts von der Bildung eines zentralen Flüssigkeitsraumes zu bemerken. Das Protoplasma der jungen Cyste ist von fein granulierter Beschaffenheit. Am deutlichsten kommt die Zusammensetzung aus feinen Körnchen in dem in Fig. 9 abgebildeten Präparat zum Ausdruck, einem Schnitt, der durch Druck ein wenig gepresst ist. Wohl als Einlagerungen in das Plasma sind gröbere Körnchen aufzufassen, die in Heidenhainpräparaten bei mässiger Differenzierung (Taf. V, Fig. 7) sich dunkel färben und in netzartig verschlungenen Reihen das Bild durchziehen. Somit gewinnt das Plasma im ganzen ein recht ungleichmässiges Gefüge. Von homogener Beschaffenheit und frei von Einschlüssen ist es dagegen in der nächsten Umgebung der Kerne — ein Verhalten, das jedoch erst genauer geschildert werden kann, nachdem über die Kerne selbst das Nötige gesagt ist. Zuvor sei noch mit einigen Worten auf die äussere Begrenzung des Plasmakörpers eingegangen. Wie am deutlichsten der in Fig. 8 abgebildete Schnitt demonstriert, schliesst das Plasma nach aussen mit einer feinen homogenen Membran ab, die offenbar den ersten Anfang der später bei Gl. anomala ja so sehr starken Cystenmembran repräsentiert. Die vollkommen scharfe Grenze, die überall zwischen dem Bindegewebe und der dem Plasmakörper unmittelbar aufliegenden

Membran erkennbar ist, lässt die Membran mit aller Deutlichkeit als zum Plasmakörper selbst zugehörig erscheinen.

Was die im Plasma eingeschlossenen Gebilde betrifft, die auf Heidenhainpräparaten intensiv dunkel hervortreten, so sind unter ihnen drei Kategorien zu unterscheiden. Es handelt sich erstens um zahlreiche Kerne, deren Gesamtmenge im Plasmakörper sich wohl auf einige Hunderte veranschlagen lässt, zweitens um eigentümliche gestreckte schlauchförmige Zellen, die sich auf Fig. 8, Taf. V, in fünf Exemplaren repräsentieren, und schliesslich um ganz unregelmässige dunkel gefärbte Körper, die den Eindruck kleinerer und grösserer Chromatinbrocken machen und hauptsächlich auf medianen Schnitten (Fig. 10) hervortreten.

Was zunächst die zahlreichen Kerne anbetrifft, so stellen dieselben annähernd kugelförmige kompakte Chromatinkörper dar, deren Durchmesser sich auf 1—1,7 μ beläuft. Ihre Struktur ist offenbar eine sehr dichte und nur bei genauerer Betrachtung kann man in ihnen ganz dunkle von ein wenig helleren Partien unterscheiden. Ihre Anordnung im Plasma ist eine derartige, dass sie auf die Rindenzone beschränkt sind. Denn wie der mediane, in Fig. 10, Taf. V, abgebildete Schnitt beweist, bleibt die zentrale Partie des Plasmakörpers ganz frei von ihnen. Auch in der äussersten Rindenschicht finden sie sich nicht, so dass man eine kernfreie Randzone und eine tiefer gelegene Kernzone unterscheiden kann. In der Kernzone selbst liegen sie teils ziemlich gleichmässig (Fig. 8), teils in unregelmässigen Gruppen (Fig. 6 und 10) verteilt.

Rings um die Kerne lässt sich zunächst meist eine schmale Aufhellungszone im Plasma erkennen. Um diese herum ist das Plasma ein wenig verdichtet und von homogener Beschaffenheit und bildet so eine schmale, von dem benachbarten granulierten Plasma abgrenzbare homogene Schale. Dieses Verhalten ist in den Präparaten im allgemeinen nicht ganz leicht zu erkennen und somit in Fig. 8 auch nur angedeutet zur Darstellung gekommen. Viel klarer lassen sich diese Verhältnisse an dem in Fig. 9 abgebildeten Präparat erkennen, das durch Druck eine mechanische Läsion erlitten hat. Von dem zarten granulierten Teil des Plasmas erscheinen hier sehr deutlich die festeren homogenen Plasmaschalen der Kerne (z) gesondert. An unverletzten Präparaten ist diese Sonderung nie eine so weitgehende, dass man etwa daran denken

könnte, es handele sich um selbständige Zellen, die in einen grossen Plasmakörper eingelagert wären. Vielmehr herrscht durchaus der Eindruck vor, dass Kerne und Plasmakörper zueinander gehören.

Das zweite in den in Fig. 6 und 8 abgebildeten Schnitten durch die Heidenhainfärbung sogleich auffallende Element im Plasmakörper sind eigentümliche schlauchartige Zellen. Ihre Länge beträgt durchschnittlich 8 μ. Im optischen Querschnitt zeigen sie eine annähernd kreisförmige Begrenzung mit einem Durchmesser von 2 μ. Ihr Protoplasma hält das Eisenhämatoxylin viel stärker fest als das Plasma der Umgebung. Sie heben sich daher als grauschwarze Zellen auf das deutlichste vom hellen Grunde ab. Es gibt zwei Arten unter ihnen. Die einen besitzen in ihrer Mitte einen einzigen grossen Kern (Fig. 8 e). Die anderen zeigen hier eine ringförmige Einkerbung, die die Zusammensetzung des ganzen Schlauches aus zwei halb so grossen zylindrischen Zellen markiert, deren jede in ihrer Mitte einen kleineren Kern besitzt (Fig. 8 ps).

Es sind demnach einkernige und zweikernige Schläuche zu unterscheiden. Erstere schliessen einen etwa doppelt so grossen Kern ein als letztere. In der Länge können die zweikernigen Schläuche die einkernigen etwas übertreffen Die Kerne weisen den gleichen kompakten Bau wie die Kerne des Plasmakörpers auf. Auch in der Grösse entsprechen sie jenen und zwar die der einkernigen Schläuche den grösseren, die der zweikernigen den kleineren Formen. Das Plasma der Schläuche ist nicht von ganz gleichmässigem Gefüge, sondern in den Randpartien und oft an den Enden etwas dichter. In den zweikernigen Schläuchen deutet ferner der Einkerbung entsprechend eine dunkler tingierte Zone die Zusammensetzung aus den beiden einkernigen Zellen halber Grösse an.

Die Gesamtzahl der Schläuche im Plasmakörper dürfte mit 100 eher zu gering als wie zu hoch veranschlagt sein. Die zweikernigen Schläuche übertreffen, wie es auch Fig. 8, Taf. V, demonstriert, an Menge erheblich die einkernigen. In ihrer Lage sind alle Schlauchzellen auf die Kernzone beschränkt. Ihre Orientierung ist dabei in den meisten Fällen, wie es Fig. 6 und 8 zeigen, derartig, dass sie mit ihrer Längsachse in die Richtung des längsten Durchmessers des eiförmigen Plasmakörpers eingestellt sind. Diese gleichmässige Orientierung bringt es mit

sich, dass sie häufig in Ketten hintereinander liegen. Auf einem besonders dicken Schnitte wurden Ketten bis zu vier Gliedern beobachtet. Es entsteht dabei durchaus das Bild von Sprossketten, wie sie bei Pilzen oder Bakterien gefunden werden.

Die soeben geschilderten Schläuche sind es, die sich in Glugeatumoren auch noch auffinden lassen, die bereits mit der Sporenbildung begonnen haben und somit als solche auf den ersten Blick diagnostiziert werden können. Es lässt sich dort mit aller Sicherheit zeigen, dass sie den Mutterboden für die ersten Sporenbildungszellen darstellen. Aus diesem Grunde sei bereits hier für sie der Name „Primärschläuche" eingeführt. Sie sind es also, die als sichere Glugeastadien die Brücke zwischen jungen Glugeacysten und dem auf der Schwanzflosse aufgefundenen Plasmakörper bilden und denselben mit aller Sicherheit zu einem Primärfall einer Glugea anomala-Cyste stempeln.

Von grundlegender Bedeutung für die Gesamtauffassung der Glugeacysten ist der Umstand, dass sich die Primärschläuche mit aller Sicherheit auf die Kerne des Plasmakörpers und die sie umgebenden Plasmaschalen zurückführen lassen. Eine zunehmende Verdichtung der Plasmaschalen, die sich dabei gleichzeitig in die Länge strecken und Schlauchform annehmen, also ein innerer Knospungsprozess führt offenbar zur Ausbildung der Primärschläuche. Übergangsstadien, die dies beweisen, sind auf Fig. 8, Fig. 9 bei b, ganz besonders zahlreich und in verschiedenen Abstufungen auf Fig. 6, Taf. V bei b, dargestellt. Man erkennt deutlich, dass die zweikernigen Schläuche sich auf zwei benachbarte Kerne des Plasmakörpers zurückführen lassen, deren Plasmaschalen sich verdichtet und etwas in die Länge gezogen haben und sich nun in der Mitte berühren. Durch immer stärkere Verdichtung der Plasmaschalen, die zu einer stärkeren Tingierbarkeit führt, heben sich die Primärschläuche, wie es Fig. 6 in einer ganzen Reihe von Stadien (b_1, b_2, b_3) demonstriert, immer schärfer von dem blass gefärbten Protoplasma der Umgebung ab. Schliesslich ist ihre Plasmastruktur eine so dichte, dass die Kerne nur bei Anwendung sehr intensiver Lichtquellen durchschimmern. In ähnlicher Weise wie die zweikernigen Schläuche sich auf zwei benachbarte kleine Kerne zurückführen lassen, können die einkernigen Schläuche von einer Plasmaverdichtung, die sich um einen einzelnen besonders grossen Kern bildet, abgeleitet werden.

Als Belege für diese Auffassung können die um einen einzigen Kern sich bildenden Verdichtungen dienen, die bei a in Fig. 6, bei a_1 und a_2 in Fig. 9, Taf. V, dargestellt sind.

Da die soeben gegebene Deutung der Präparate für die Gesamtauffassung der Glugeacysten sehr wesentlich ist, wird es nicht überflüssig erscheinen, zu prüfen, ob die erhaltenen Bilder nur in diesem Sinne oder nicht auch noch anders gedeutet werden können. Man könnte vielleicht die Frage aufwerfen, ob nicht die vermeintlichen Übergangsstadien nur stärker differenzierte Primärschläuche wären. Dem widerspricht jedoch der Umstand, dass die einmal ausgebildeten Primärschläuche die Farbe ausserordentlich festhalten. So zeigte sich bei einer absichtlich besonders lange ausgeführten Differenzierung eines Schnittes das Plasma der Schläuche noch deutlich dunkel gefärbt, während bereits die Kerne des Plasmakörpers ganz abgeblasst waren.

Ein weiterer Einwand könnte darin bestehen, dass man die Frage aufwirft, ob nicht die verschieden stark tingierten „Übergangsstadien" nur ganz dünne Anschnitte von schon fertig ausgebildeten Primärschläuchen wären. Einer solchen Auffassung steht jedoch nicht nur der Umstand entgegen, dass die Kerne in ihnen in ihrer ganzen Grösse getroffen sind, sondern in einer Reihe von Fällen konnte ich mich auch durch Bewegung der Mikrometerschraube mit aller Sicherheit davon überzeugen, dass die fraglichen Gebilde nicht an der Oberfläche des Schnittes, sondern mitten in demselben gelegen sind, so dass sie nur bei mittlerer Einstellung sichtbar werden.

Unter diesen Umständen scheint mir die Deutung der Bilder im Sinne von Übergangsstadien zu Primärschläuchen die einzig berechtigte zu sein. Mit diesem Nachweis ist aber auch gleichzeitig die Zugehörigkeit der Kerne des Plasmakörpers zum Parasiten sichergestellt und sie können fortan als die „Primärkerne" der Glugeacyste bezeichnet werden. Dass der vom Wirtsgewebe scharf abgesetzte Plasmakörper mit aller Wahrscheinlichkeit als Zellplasma zu den Kernen gehört, wurde bereits oben hervorgehoben.

Das Primärstadium einer Glugeacyste würde sich demnach als ein vielkerniger Plasmakörper repräsentieren, in dem durch innere Knospung die Primärschläuche als die Vorstufe der sporenbildenden Zellen ihren Ursprung nehmen. Es fragt sich nun, ob

sich diese Auffassung auch gegenüber dem letzten mit Kernfarbstoffen intensiv tingierbaren Element des Plasmakörpers aufrecht erhalten lässt, gegenüber den ganz unregelmässigen Chromatingebilden, zu deren Schilderung nunmehr übergegangen sei.

Ab und zu in den Randschnitten, ganz besonders reichlich aber in dem in Fig. 10, Taf. V, abgebildeten Medianschnitt, finden sich im Bereich der Kernzone, vor allem aber in der zentralen Partie des Plasmakörpers ganz unregelmässig gestaltete nach Heidenhain intensiv wie Chromatin färbbare Gebilde (v). Sie erscheinen bald als mannigfaltig gestaltete zackige Brocken, bald als unregelmässige Stränge oder Körnerhaufen. Manchmal sind sie von geringerer Grösse als die kugelförmigen Kerne, bisweilen übertreffen sie diese aber auch an Ausdehnung. Es muss dabei berücksichtigt werden, dass sie zweifellos eine weniger dichte Struktur als jene besitzen. Wie auf Fig. 10 dargestellt, kann man neben tiefschwarzen Stellen öfters in ihnen einen helleren Grundton erkennen und bisweilen wie in Taf. V, Fig. 6 Mitte, einer Partie, die in Fig. 7 noch einmal stärker vergrössert abgebildet ist, sieht man sie in sehr lockerer Verteilung. Sie erscheinen dann als ein Haufen tiefdunkel gefärbter Kügelchen, die durch weniger intensiv gefärbte Stränge zusammengehalten werden.

Besonders beachtenswert ist es, dass sie in der Nähe der Kernzone oder noch im Bereiche derselben (Fig. 10) auch in Formen auftreten, die als Umwandlungsstadien aus den Primärkernen gedeutet werden können. Man braucht nur eine geringe Lockerung ihrer Struktur anzunehmen, die zu Unregelmässigkeiten der bis dahin annähernd kugelförmigen oder polyedrischen Oberfläche führt, um die Bilder zu erhalten, wie sie zum Beispiel in Fig. 10 bei r in vier Fällen sichtbar sind. Auch der viereckige Kern in der Mitte von Fig. 6, der bei n in der stärker vergrösserten Fig. 7 noch besser zu erkennen ist, könnte als ein Primärkern im Beginn der Teilung in kleinere Brocken aufgefasst werden.

Nur in seltenen Fällen sind die unregelmässigen Chromatingebilde von einer Aufhellungszone im Plasma umgeben (Fig. 8 v und 6 x). Meist erscheint vielmehr das Protoplasma in ihrer Nähe dunkler tingiert, von einer dichten und ziemlich homogenen Beschaffenheit, die an das Verhalten des Plasmas der Primärschläuche in den ersten Stadien ihrer Entwicklung erinnert. Die

Plasmaverdichtungen umgeben jedoch die Chromatinbrocken nicht immer allseitig, sondern hängen ihnen bisweilen wie eine Fahne an, so bei e in Fig. 10. Sehr häufig bilden sie, wie dieselbe Figur und Fig. 9 bei w demonstriert, Stränge, die eine ganze Reihe grosser und kleiner Chromatinbrocken miteinander in Verbindung setzen. Die Stränge, die den blass gefärbten Grund des Plasmakörpers in grosser Ausdehnung durchsetzen, können auch miteinander verschmelzen und mannigfache Anastomosen bilden.

Auf einen Teil der eigentümlichen Chromatinbrocken und der Plasmaverdichtungen in ihrer Umgebung glaube ich, wie die Beobachtung weiterer Entwicklungsstadien ergibt, in letzter Linie die „vegetativen Kerne", die schon so mannigfache Deutung in der Literatur erfahren haben, zurückführen zu müssen. Die Beobachtung der als Übergangsstadien deutbaren Bilder scheint mir eine Ableitung der Chromatinbrocken von den Primärkernen wohl möglich zu machen.

Das Hauptgewicht möchte ich hier jedoch weniger auf diesen speziellen Ableitungsmodus, der möglichst noch an jüngeren Primärstadien erhärtet werden müsste, als wie darauf legen, dass es ungemein unwahrscheinlich wäre, die Chromatinbrocken in den Plasmasträngen nicht als Protozoenbestandteile, sondern im entgegengesetzten Sinne zu deuten, sie demnach auf Wirtsgewebsreste zu beziehen.

Wollte man nämlich versuchen, noch den Standpunkt zu wahren, dass der ganze Plasmakörper eine einzige hypertrophische Wirtszelle darstellen könnte, so würde man wohl am ehesten die grauen Stränge mit den tiefschwarz gefärbten Brocken als einen grossen verzweigten Wirtskern mit diffus gefärbtem Grund und eingelagerten Chromatinkörpern zu deuten suchen. Wenn jedoch die sehr starke, ungefähr 2500fache Vergrösserung von Fig. 8 und 9 in Betracht gezogen wird, so bieten die grauen Stränge mit den Chromatinbrocken zweifellos von vornherein kaum ein Bild, das an Metazoenkerne gemahnen würde. Aber auch die Annahme einer tiefgreifenden Umwandlung eines wohlstrukturierten Metazoenkernes unter dem Einfluss der Parasiten würde, ohne sich auf analoge Verhältnisse bei anderen Microsporidienerkrankungen stützen zu können, in der Luft schweben.

In allen Fällen nämlich, in denen bisher Hypertrophie und Sprossung von Wirtskernen unter dem Einfluss von Microsporidien

beobachtet wurde, haben die Kerne, welchem Gewebe sie auch entstammen mögen, doch stets ihre Kernmembranen aufs deutlichste bewahrt. Ob in dem Falle hypertrophischer Kerne der Hodenzellen der Barbe, der Ganglienzellen von Lophius, der Lymphozyten von Limnodrilus, stets treten die Kerne als fest abgegrenzte geschlossene Gebilde im Plasma auf. Und gerade für die jüngeren Stadien der Einwirkung von Microsporidien auf Zellen — und um ein junges Stadium, sollte man erwarten, müsste es sich hier in der nur 80 μ im Durchmesser erreichenden Primärcyste doch jedenfalls handeln — ist es charakteristisch, dass die Kerne in ihrer Struktur ganz unbeeinflusst bleiben und nur allmählich hypertrophisch werden. Es scheint mir demnach in keiner Weise die Berechtigung vorzuliegen, in den grau gefärbten Strängen mit ihren Chromatinbrocken etwa einen reich verzweigten Metazoenkern erblicken zu wollen. Vielmehr glaube ich, auch diese Komponente des Plasmakörpers und damit die Primärcyste in allen ihren Teilen zum Protozoon stellen zu müssen.

Resümiere ich die erhaltenen Ergebnisse, so stellt sich demnach die Primärcyste dar als ein vom Wirtsgewebe scharf abgesetzter Plasmakörper mit vielen Kernen, die zum Teil in unregelmässige Chromatinbrocken überzugehen scheinen, zum Teil die Kristallisationspunkte darstellen, um die sich durch einen inneren Knospungsprozess die Primärschläuche bilden. Auf eine von Parasiten durchsetzte Wirtszelle weist nichts hin.

Aufgabe der weiteren Darstellung wird es sein, zu zeigen, wie aus Primärkernen und Primärschläuchen die Sporenbildungsstadien hervorgehen und andererseits aus den unregelmässigen Chromatinbrocken in den Plasmasträngen sich die vegetativen Kerne bilden. Im Gegensatz zu der Auffassung von Stempell, Awerinzew und Fermor wird sich dabei ergeben, dass es sich um zwei aller Wahrscheinlichkeit nach völlig getrennte Entwicklungsreihen handelt, die ausser an ihrer Wurzel in keiner genetischen Verbindung mehr miteinander stehen, und dass jedenfalls die vegetativen Kerne in keiner Weise als Mutterboden für die Sporenentwicklung in Betracht kommen.

Zusammenfassung.

Auf der Schwanzflosse eines jungen 2 cm langen Stichlings wurde eine 80 μ im grössten Durchmesser erreichende Primärcyste

aufgefunden. Dieselbe stellt sich als ein vielkerniger solider Plasmakörper dar, der gegen das Bindegewebe durch eine feine Cystenmembran abgesetzt ist. Eine Sporenbildung hat noch nicht stattgefunden. Dagegen finden sich im Plasma an 100 ein- und zweikernige Primärschläuche, aus denen sich später die sporenbildenden Zellen entwickeln. Wie sich mit Bestimmtheit nachweisen lässt, entstehen die Primärschläuche aus den kompakten Kernen des Plasmakörpers durch Verdichtung des Protoplasmas in ihrer unmittelbaren Umgebung. Es folgt hieraus, dass die Kerne des Plasmakörpers gleichfalls zu Glugea anomala gehören. Sie können als die „Primärkerne" der Glugea bezeichnet werden.

Ausserdem finden sich in der Primärcyste noch unregelmässige Chromatinbrocken, die in Strängen dichten Plasmas liegen. Sie stellen zum Teil die Vorstufen der grossen bläschenförmigen Kerne älterer Stadien dar, die von Stempell als vegetative Kerne beschrieben wurden. Übergangsbilder sprechen dafür, sie von den Primärkernen abzuleiten. Jedenfalls besteht keine Möglichkeit, sie auf Reste des Wirtsgewebes zu beziehen.

Die Primärcyste von Gl. anomala ist somit als ein grosser Protozoenplasmakörper mit vielen Kernen aufzufassen, die zum Teil in unregelmässige Chromatinbrocken (die späteren vegetativen Kerne) überzugehen scheinen, zum Teil die Zentren darstellen, um die durch einen inneren Knospungsprozess die Primärschläuche als die Vorstufen der sporenbildenden Zellen entstehen.

VII. Die Entwicklung der Primärschläuche zu Sekundärschläuchen und die Aufteilung derselben in Vakuolenzellen.

Der Fall, der sich unter meinem Material am besten an das soeben geschilderte Primärstadium anschliesst, betrifft eine junge Glugeacyste, die gleichfalls in der zarten Schwanzflossenmembran ihren Sitz hat. Ihr Durchmesser erreicht jedoch fast 200 μ, sie stellt keinen soliden Plasmakörper mehr dar, sondern enthält bereits zahlreiche mit Sporen und Sporenentwicklungsstadien gefüllte Flüssigkeitsräume. Das Protoplasma, das hauptsächlich als breite Rindenschicht entwickelt ist, schliesst eine grosse Menge intensiv nach Heidenhain färbbarer Kügelchen ein, die ziemlich gleichmässig verteilt sind und die feinere Plasmastruktur verdecken (Taf. VI, Fig. 11 c). Sie können einen Durchmesser von

etwa $^1/_3$ μ erreichen und entsprechen wohl den feineren dunkel tingierten Granula des Primärfalles.

In grosser Anzahl finden sich in der Rindenschicht der Cyste kleine kompakte Kerne (Taf. VI Fig. 11 p, Fig. 16 p), die völlig den an dem jüngeren Fall beschriebenen Primärkernen entsprechen. Auch das Verhalten des Plasmas in ihrer Umgebung ist ein ähnliches. Unmittelbar um sie findet sich eine Zone, in der das Plasma stark aufgehellt erscheint. Diese wird von einer Schale dichten homogenen Plasmas umgeben. Gegenüber dem Befunde in dem jüngeren Falle ist jedoch zu konstatieren, dass die äussere Plasmaschale sich jetzt deutlicher gegen das Cystenplasma absetzt. Da überdies sowohl die helle Plasmazone wie die dichte Plasmaschale ganz frei von Einschlüssen bleiben, so hebt sich die Umgebung der Kerne sehr deutlich aus der plasmatischen Grundsubstanz der Cyste heraus, die die intensiv färbbaren Granula einschliesst. Man gewinnt somit den Eindruck, dass sich um die Primärkerne Zellterritorien abgrenzen. Statt von Primärkernen und ihren Plasmahöfen erscheint es jetzt richtiger, von „Primärzellen“ zu sprechen. Diese Abgrenzung gegen das Cystenplasma ist jedoch noch keine sehr scharfe. Wie in dem jüngeren Falle kann die Verdichtung des Plasmahofes sich bisweilen auf einen grösseren Bezirk ausdehnen, wobei man den Eindruck gewinnt, dass die Grössenzunahme durch Apposition neuer Schichten, durch ein Weitergreifen der Verdichtung erfolgt. Indem gleichzeitig eine Längsstreckung stattfindet, entstehen wie in dem jüngeren Falle Übergangsstadien zu Primärschläuchen (Taf. VI, Fig. 11 u). Allerdings scheint eine Neubildung von Primärschläuchen nur noch selten stattzufinden.

Fertig ausgebildete Primärschläuche findet man in grosser Menge teils in der Rindenschicht, teils in den Plasmasepten der zentralen Cystenpartie (Fig. 11 ps). Sie zeigen genau dieselbe Gestalt und ähnliche Dimensionen wie die Primärschläuche des jüngeren Falles. Ein geringfügiger Unterschied liegt nur darin, dass die äusserste Plasmaschicht der Schläuche sich jetzt öfters als Membran abgrenzen lässt, und dass die Kerne nun von einer deutlicheren Aufhellungszone umgeben werden.

Neben einkernigen Formen (Taf. VI, Fig. 11 ps, Textfig. 5 a) treten auch hier zweikernige auf (Textfig. 5 b), die aller Wahrscheinlichkeit nach wie in der Primärcyste auf das Verschmelzen

zweier kleinerer Zellen zurückzuführen sind. Dafür sprechen die Grössenverhältnisse, denn während die einkernigen Schläuche nicht ganz die Länge von 7 μ erreichen, ist die Länge der zweikernigen beträchtlicher und variiert zwischen 8,8 und 9,4 μ. Die somit ziemlich erhebliche Grössendifferenz zwischen den zweikernigen und einkernigen Schläuchen lässt es als ausgeschlossen erscheinen, dass die ersteren aus den einkernigen einfach durch Teilung des Kernes hervorgegangen wären. In diesem Sinne werden vielmehr nur solche zweikernigen Formen gedeutet werden können, die dieselbe Länge wie die einkernigen Schläuche besitzen (Textfig. 5 c). Während im Primärfalle die Zahl der zweikernigen Schläuche erheblich überwog, treten hier einkernige und auf Verschmelzen zurückzuführende zweikernige etwa in gleicher Menge auf. An die in der Primärcyste beobachtete Kettenbildung erinnert es, dass in den Septen häufig zwei Schläuche hintereinander liegen. Bisweilen ist an den zweikernigen Schläuchen, wie Textfig. 5 b demonstriert, eine Einkerbung, die die Zusammensetzung aus zwei ursprünglich getrennten Zellen andeutet, nicht mehr zu erkennen.

Von besonderer Wichtigkeit ist die der Beschreibung zugrunde gelegte junge Cyste dadurch, dass sie die gesamte weitere Entwicklung der Primärschläuche zu verfolgen gestattet. Dieselbe wird zunächst durch eine lebhafte Vermehrung ihrer Kerne eingeleitet. Dafür, dass diesem Prozess in den eben geschilderten zweikernigen Schläuchen zunächst ein Verschmelzen der beiden Kerne vorausgeht, wurde ein Anhaltspunkt nicht gefunden. Auf diese Frage musste besonders geachtet werden, da für eine grosse Reihe von Protozoen das Verschmelzen von Tochterkernen im Sinne eines reduzierten Befruchtungsvorganges (Autogamie) beschrieben worden ist. Abgesehen davon, dass ein Verschmelzen der Kerne nicht beobachtet wurde, ist es auch nicht sehr wahrscheinlich, dass ein Befruchtungsvorgang an dieser Stelle des Entwicklungskreises stattfinden sollte.

Den Ausgangspunkt der weiteren Entwicklung bilden somit neben einkernigen Primärschläuchen die etwas längeren Doppelschläuche mit zwei getrennt bleibenden Kernen. In den einkernigen Primärschläuchen erfolgt zunächst die Teilung des Kernes in zwei Tochterkerne. Die resultierenden zweikernigen Schläuche (Textfig. 5 c) sind an ihrer geringen, der Länge der Mutterschläuche (7 μ) entsprechenden Grösse leicht von den

zweikernigen Doppelschläuchen (Textfig. 5 b) zu unterscheiden. Auch wenn die beiden Tochterkerne von neuem in Teilung eintreten, und wie es Fig. 12, Taf. VI, und Textfig. 5 e demonstrieren, zwei regelmässig hintereinander liegende hantelartige Teilungs-



Fig. 5.
Entwicklung von vielkernigen Sekundärschläuchen aus Primärschläuchen. a, c, e, g, i. Entwicklungsreihe eines einkernigen Primärschlauches. b, d, f, h, k. Entwicklungsreihe eines zweikernigen Primärschlauches.

Aus einer Schnittserie durch eine Cyste von 0,2 mm Durchmesser (cf. Taf. VI, Fig. 11—15). Konservierung mit Flemmingscher Flüssigkeit. Färbung nach Heidenhain. Vergr. ca. 1300 : 1.

figuren liefern, bleibt die Länge des Mutterschlauches noch fast die gleiche. Mit der weiteren Kernvermehrung kommt es zu einer ausgesprochenen Längsstreckung. So wurden acht Kerne hintereinander nur in Schläuchen gefunden, die im Mindestfalle eine Länge von 12 μ besitzen (Textfig. 5 g). Oft sind dieselben erheblich länger und dann meist von weniger dichtem Plasmagefüge. Schläuche mit vier Teilungsfiguren, die bereits auf dem Stadium der Durchschnürung der Kerne eine Länge von 17 μ besitzen (Textfig. 5 f), dürften wohl auf die Doppelschläuche als Ausgangspunkt zurückzuführen sein, desgleichen solche, in denen die vier Teilungsfiguren nicht in einer Reihe hintereinander liegen, sondern wie Fig. 13, Taf. VI, zeigt, etwas unregelmässig, in zwei Gruppen angeordnet sind. In den achtkernigen Schläuchen liegen die Kerne oft noch paarweise, offenbar so, wie sie durch die Teilung der vier Mutterkerne entstanden sind.

Die weitere Entwicklung scheint nach einem doppelten Modus erfolgen zu können. Entweder streckt sich der Schlauch unter Vermehrung der Kerne auf 16 weiter in die Länge und stellt nun einen 20—30 μ langen Schlauch mit einer einzigen Reihe von Kernen dar (Textfig. 5 i). Oder Kernteilung und Plasmaausdehnung erfolgen nun nicht mehr genau in der Richtung der Längsachse des Schlauches, so dass zweireihige 16 kernige Schläuche von bisweilen 18 μ nur Länge, aber dafür fast 4 μ Dicke gebildet werden (Textfig. 5 k). Als ein Entwicklungsstadium eines solchen Schlauches ist vielleicht der in Taf. VI, Fig. 15, abgebildete Schlauch aufzufassen, bei dem die Kerne nicht kugelförmig, sondern spindelförmig erscheinen, wie zu einer Teilung auseinander gezogen und zwar in Richtungen, die öfters schräg zur Längsachse des Schlauches stehen. Der in Fig. 14, Taf. VI, abgebildete Schlauch mit fünf vollständig getroffenen und zwei nur angeschnittenen Kernteilungsfiguren, die zum Teil quer zur Längsachse des Schlauches eingestellt sind, lässt sich hier unmittelbar anschliessen.

Die dünne Schnittführung bringt es natürlich mit sich, dass in den längs geschnittenen Schläuchen nicht immer alle Kerne in die Schnittebene fallen. Aber die Zahlen von 4,8 und 16 Kernen lassen sich doch so häufig feststellen, dass an dem geschilderten Entwicklungstypus mit seiner regelmässigen Kernvermehrung nicht gezweifelt werden kann. Wenn daher nach Awerinzew und Fermor, wie oben S. 88 ausgeführt, offenbar

hierher gehörige Gebilde durch Umwandlung von Kernen entstehen sollen, deren Chromatin nach und nach in einzelne Abschnitte zerfällt, so müssen wohl diese Autoren entweder durch ungünstig konserviertes Material oder degenerierende Formen zu ihrer Ansicht gelangt sein.

Ob auch nach dem Sechzehnkernstadium die Kernvermehrung weiter eine so regelmässige ist, dass alle Kerne annähernd gleichzeitig in Teilung eintreten, muss ich dahingestellt lassen. Bei so grossen Schläuchen wird es sich naturgemäss meist um Teilstücke in den Schnitten handeln, so dass die Gesamtzahl der Kerne sich schwer feststellen lässt. Es sei daher nur erwähnt, dass als grösste Kernzahl in den Schläuchen des vorliegenden Falles 24 beobachtet wurde. In anderen Fällen konnten auch 32 und mehr Kerne gezählt werden. Man wird vielleicht in der Annahme nicht fehl gehen, dass die ganz besonders langen Schläuche auf die ja von vornherein schon etwas längeren zweikernigen Primärschläuche zurückzuführen sind.

Schon von dem achtkernigen Stadium an können die Sekundärschläuche, wie die vielkernigen Schläuche im Gegensatz zu den Primärschläuchen genannt seien, indem nun weitere Kernteilungen unterbleiben, zum Ausgangspunkt andersartiger Entwicklungsprozesse werden. Greife ich zunächst den mir in erster Linie als typisch erscheinenden Fall heraus, so wäre hervorzuheben, dass sich um die bisher im Cystenplasma eingeschlossenen 8-, 16- oder mehrkernigen Sekundärschläuche ein Flüssigkeitshohlraum bilden kann. Die so entstehenden Vakuolen können noch ganz die langgestreckte Form der Schläuche besitzen. In anderen Fällen haben die Sekundärschläuche mit dem Beginn der Flüssigkeitsabscheidung in ihrer Umgebung sich mehr und mehr der Kugelgestalt genähert. Dementsprechend besitzen dann auch die Vakuolen einen kreisförmigen Umriss.

In den Vakuolen erfolgt nun bald eine Aufteilung des Schlauches, die zu einem restlosen Zerfall in eine so grosse Anzahl von Zellen führt, als Kerne vorhanden sind. Aus einem achtkernigen Schlauch müssen also acht, aus einem 16 kernigen 16 Zellen hervorgehen. Das in Taf. VI, Fig. 16, abgebildete Präparat macht es wahrscheinlich, dass grosse Schläuche dabei zuerst in gröbere Stücke zerfallen. Ein jedes der vielkernigen Teilstücke unterliegt dann einer weiteren Aufteilung.

Die durch den successiven oder simultanen Zerfall der Schläuche schliesslich resultierenden einkernigen Zellen seien wegen ihrer Lage in den Vakuolen kurz als Vakuolenzellen bezeichnet. Ihre Gestalt ist eine sich der Kugelform nähernde polyedrische. Sie besitzen in dem vorliegenden Falle (Fig. 16) kugelige Kerne von genau dem gleichen kompakten Typus, wie er in den Primärzellen und Primärschläuchen zu beobachten war. Die Vakuolenzellen stellen die Mutterzellen der Sporoblasten dar. Als Ausgangspunkt der Sporenbildung werden sie daher später (Abschnitt IX) noch eine eingehendere Beschreibung erfahren.

Kehre ich zu den Umbildungsprozessen, die sich an den Sekundärschläuchen abspielen, zurück, so möchte ich es nicht für ganz ausgeschlossen halten, dass neben dem soeben geschilderten Entwicklungstypus noch eine Entwicklung in anderem Sinne erfolgen kann. Es muss dabei davon ausgegangen werden, dass bisweilen Sekundärschläuche sich finden, deren Plasma sich auffallend schwach färbt und offenbar ein wenig dichtes Gefüge besitzt. Vielleicht können nun acht- oder mehrkernige Schläuche dieser Art, ehe sie in eine Vakuole aufgenommen werden, schon wenn sie noch im Cystenplasma gelegen sind, Zellen aus sich hervorgehen lassen, sei es durch völligen Zerfall, sei es manchen Figuren von Awerinzew und Fermor entsprechend durch successive Abspaltung an dem einen Schlauchende. Jedenfalls würden die so entstehenden Zellen mit ihrem wenig dichten Plasmagefüge eine grosse Ähnlichkeit mit den Primärzellen (Taf. VI, Fig. 11 p und 21 p) aufweisen. Es ist wohl möglich, dass auf diese Weise eine Vermehrung in der Zahl der Primärzellen stattfindet.[1]) Sekundärschläuche, die einem solchen Entwicklungstypus folgen, würden den Schizontenketten anderer Microsporidien, diejenigen dagegen, die in Vakuolen aufgenommen werden, den Pansporoblasten anderer Formen verglichen werden können.

Eine ungewöhnlich weitgehende Ausbildung von Sekundärschläuchen wurde in einer jungen, durch künstliche Infektion erzeugten 300 μ grossen Cyste beobachtet (cf. S. 103). Während die zentrale Partie der Cyste noch relativ wenig Sporen und Sporenentwicklungsstadien enthielt, erwies sich die plasmatische

[1]) Von einer Vermehrung der Primärzellen durch einfache Zweiteilung habe ich mich bisher nicht mit Sicherheit überzeugen können.

Rinde fast ganz in Sekundärschläuche beträchtlicher Länge aufgeteilt. U. a. konnte hier ein zweireihiger Schlauch, in dem 42 Kerne gezählt wurden, von 35 μ und ein einreihiger sogar von der Länge von 47 μ beobachtet werden.

Schliesslich kann es keinem Zweifel unterliegen — und das gilt namentlich für Befunde in noch etwas älteren Cysten — dass auch Sekundärschläuche vorkommen können, die eine weitere Entwicklung nicht erfahren und aller Wahrscheinlichkeit nach degenerieren. Es sind dies Gebilde, die meist eine deutliche äussere Membran, aber nur schwach färbbares Plasma besitzen und deren Kerne stark gelockert sind und in unregelmässige Granula und Chromatinstränge zu zerfallen scheinen.

Mit zunehmender Grösse der Cyste trifft man die Primärschläuche in den Schnitten immer seltener an. Dagegen finden sich in den wachsenden Cysten trotz lebhafter Sporenbildung stets in grosser Menge Sekundärschläuche und die vielkernigen Plasmakugeln, die in den Vakuolen in Vakuolenzellen zerfallen. Es muss demnach in älteren Cysten noch einen anderen Ursprung für sie geben als die Entstehung aus Primärschläuchen. Tatsächlich lässt sich hier eine direkte Entstehung aus Primärzellen als Regel nachweisen, wie im folgenden Abschnitt genauer ausgeführt werden wird.

Zusammenfassung.

In jungen Cysten von Gl. anomala, in denen bereits die Sporenbildung begonnen hat, grenzen sich die Primärkerne mit ihren Plasmahöfen als „Primärzellen“ schärfer gegen das Cystenplasma ab.

Die ein- und zweikernigen Primärschläuche wachsen unter wiederholten synchron verlaufenden Kernteilungen zu 8-, 16- oder mehrkernigen Sekundärschläuchen aus.

In typischen Fällen erfolgt um diese eine Flüssigkeitsabscheidung. Innerhalb der Flüssigkeitsvakuole zerfallen sie simultan oder successiv in so viele Zellen als sie Kerne enthalten. Es sind dies die „Vakuolenzellen“, die Mutterzellen der Sporoblasten.

VIII. Über eine Modifikation in der Entwicklung der Vakuolenzellen, die für ältere Cysten charakteristisch ist.

Der Beschreibung der Entwicklungsprozesse, die sich an älteren Cysten abspielen, seien hauptsächlich zwei annähernd 1 mm

und 2 mm im Durchmesser erreichende Cysten zugrunde gelegt, die in der Haut von zwei 2 cm bezw. 2,5 cm langen Stichlingen ihren Sitz hatten. Sie werden bereits von einer dicken Cystenmembran und einer starken, reich mit Blutgefässen durchsetzten Bindegewebshülle umgeben. Eine grosse Menge Sporen ist in ihnen gebildet, die teils in den Vakuolen der Rindenschicht, teils in einem gemeinsamen zentralen Hohlraum liegen, der durch Konfluenz zahlreicher Vakuolen entstanden ist. Die in den jüngeren Cysten angebahnte Abgrenzung der Plasmahöfe der Primärkerne gegen das Cystenplasma, mit der die Ausbildung der Primärzellen begann, ist in den grösseren Cysten bedeutend schärfer ausgeprägt. Die Primärzellen erscheinen jetzt durch eine feine Membran aufs deutlichste gegen das Cystenplasma abgesetzt, und es kann nicht dem geringsten Zweifel unterliegen, dass sie nunmehr ganz selbständige Elemente darstellen.

Die Struktur des Cystenplasmas variiert etwas. In der kleineren Cyste erscheint die plasmatische Grundsubstanz annähernd homogen, in der grösseren bisweilen ausgesprochen wabig. Wie in dem jüngeren Falle (Seite 114) finden sich als Einschlüsse gleichmässig oder in Gruppen verteilte Granula, die sich jedoch nach Heidenhain nicht mehr so intensiv färben lassen und jetzt auch eine geringere Grösse besitzen. Die Primärzellen heben sich daher nicht so sehr dadurch, dass sie keine Kügelchen einschliessen, als durch ihre ganz scharf ausgeprägte Membran vom Cystenplasma ab. Neben Zellen, die mit 3 μ etwa noch denselben Durchmesser wie in dem jüngeren Falle aufweisen (cf. Taf. VI, Fig. 11 p und 21 p), kommen grössere Formen von etwa 4 μ Durchmesser zur Beobachtung (Taf. VI, Fig. 17a und b). Die Struktur des Kernes erscheint weiter differenziert. Er stellt nicht mehr einen kompakten Chromatinkörper dar, sondern nähert sich mehr dem bläschenförmigen Typus. Am dunkelsten färbt sich die Kernperipherie, von der einige intensiv gefärbte Stränge und Brocken in das Innere des Kernes vorspringen, das im übrigen hell erscheint. Das Plasma ist von sehr zartem Bau. Mit dem Auftreten der intensiv färbbaren Zellmembran hat es ein lockeres wabiges Gefüge angenommen.

Wie eine Reihe von Abbildungen (Taf. VI, Fig. 17a bis e, Fig. 18) demonstrieren, kommt es in einem Teil der Primärzellen zu einer schnellen Kernvermehrung, die mit einer Volumen-

zunahme der ganzen Zelle Hand in Hand geht. Unter den Kernteilungsstadien findet sich wie bei der Entwicklung der Primärschläuche besonders häufig das schon oft für Microsporidien beschriebene hantelartige Bild, ein Stadium, bei dem die Tochterkerne noch durch einen oft gekrümmt verlaufenden Verbindungsfaden zusammenhängen. Die erste Kernteilung ist in Fig. 17c dargestellt. Ein Stadium mit vier ruhenden Kernen repräsentiert Fig. 17d. In Fig. 18 sind drei vollständig getroffene und eine vierte angeschnittene Kernteilungsfigur zu erkennen. Fig. 17e demonstriert ein Stadium mit acht ruhenden Kernen. In den Abbildungen tritt deutlich die erhebliche Volumenzunahme hervor, die die Vermehrung der Kernzahl begleitet. Die ungemein zarte, grobwabige Plasmastruktur macht es dabei sehr wahrscheinlich, dass das schnelle Wachsen unter Flüssigkeitsaufnahme erfolgt.

Gegenüber dem Wachstum der Primärschläuche fällt besonders auf, dass die Grössenzunahme nicht wie dort vorwiegend in einer Richtung, sondern von vornherein in verschiedenen Dimensionen erfolgt. So können achtkernige Stadien (Fig. 17e, Fig. 18) noch dieselbe polyedrische, annähernd kugelförmige Gestalt besitzen wie die Primärzelle, die den Ausgangspunkt der Entwicklung bildete. Und während bei der Kernvermehrung in den Primärschläuchen die starre und lange Form des Schlauches eine regelmässige Einstellung der Kernteilungsfiguren annähernd in der Richtung der Längsachse des Schlauches zur Folge hatte, kommt es hier zu einer Orientierung der Kernteilungsfiguren in den verschiedensten Richtungen.

Mit Zunahme der Kernzahl, die von 8 auf 16 und mehr Kerne steigt, verwischen sich jedoch die Unterschiede gegenüber dem Verhalten der Sekundärschläuche. Einmal kann es auch hier zu einer ausgesprochenen Längsstreckung kommen (Taf. VI, Fig. 21s). Andererseits wurde bereits oben erwähnt, dass vielkernige Sekundärschläuche nach Beginn einer Flüssigkeitsabscheidung in ihrer Umgebung sich öfters der Kugelgestalt nähern.

Dass es sich bei den Entwicklungsprozessen in den Primärzellen und Primärschläuchen nicht um prinzipiell verschiedene Dinge handelt, geht offensichtlich daraus hervor, dass auch die von den Primärzellen abzuleitenden vielkernigen Kugeln und Schläuche vom achtkernigen Stadium ab in Flüssigkeitsvakuolen

aufgenommen werden und hier genau so wie die Sekundärschläuche durch Aufteilung Vakuolenzellen liefern.

Wie Fig. 21 bei v demonstriert, verschwindet mit dem Beginn der Ausbildung einer Flüssigkeitsvakuole die Zellmembran, und das Plasma nimmt ein dichtes, ziemlich homogenes Gefüge an. Auch die in Fig. 19 und 20 dargestellten vielkernigen Kugeln mit dichtem Plasma waren bereits in Vakuolen gelegen.

In den vielkernigen Stadien, die aus den Primärzellen hervorgehen, zeigen die Kerne genau den gleichen bläschenförmigen Bau wie die Primärzellenkerne, von denen sie abstammen (Taf. VI, Fig. 17, 19, 20, 21). Bisweilen tritt im Zentrum des Kernes ein dunkel färbbares Körnchen hervor, das an die Centriolen erinnert, die von Hartmann und seinen Schülern in vielen Protozoenkernen beschrieben wurden. Auch die Vakuolenzellen, die durch Aufteilung der vielkernigen Stadien in den Vakuolen entstehen, zeigen, wie Fig. 22, demonstriert, den gleichen bläschenförmigen Kerntypus, während die aus den Sekundärschläuchen entstandenen Vakuolenzellen den kompakten Bau der Primärkerne junger Cysten aufwiesen.

In beiden Fällen stellen die Vakuolenzellen die Mutterzellen der Sporoblasten dar, die genau die gleichen Sporen in den jungen wie in den alten Cysten liefern. Somit führen die beiden Entwicklungstypen: auf der einen Seite die Kernvermehrung in den Primärschläuchen, auf der anderen Seite in den Primärzellen schliesslich genau zu dem gleichen Produkt.

Naturgemäss erhebt sich die Frage, warum überhaupt um ein und dasselbe Ziel zu erreichen, zwei verschiedene Wege in den jüngeren und den älteren Cysten eingeschlagen werden. Wie mir scheint, ist die Ausbildung des zweiten Entwicklungsmodus nur eine Folge der vollständigen Abgrenzung der Primärzellen gegen das Cystenplasma. So lange in den jungen Cysten eine scharfe Grenze noch nicht bestand, konnten die Plasmahöfe der Primärkerne durch eine weiter um sich greifende Verdichtung des Plasmas, gewissermassen durch Auflagerung neuer Schichten, an Volumen zunehmen und unter Längsstreckung die Primärschläuche formieren. Sowie die Primärzellen jedoch durch eine feste Membran gegen das Cystenplasma abgegrenzt waren, konnte ihr Wachstum nicht mehr durch Apposition, sondern nur noch durch Intussuszeption erfolgen. Während der erste Entwicklungs-

modus den Charakter einer Aufteilung der Plasmarinde in Primärschläuche trägt, entspricht der zweite Modus einem mehr unmittelbaren Wachstum der abgekapselten Zellen. Sie nehmen nicht auf Kosten des Plasmakörpers, sondern offenbar vermöge der vom Wirte zuströmenden Nahrungssäfte an Volumen zu.

In diesem Zusammenhang erscheint es wohl möglich, dass die Ausbildung der beiden Entwicklungsmodi in naher Beziehung zu den verschiedenen Ernährungsbedingungen steht, wie sie in den jungen Plasmakörpern einerseits, den grösseren Cysten andererseits obwalten. Die innige Verbindung mit dem Wirtskörper, die in der Entwicklung eines dichten Kapillarnetzes um die Cyste ihren Ausdruck findet, tritt erst bei einer gewissen Cystengrösse ein. Vielleicht geht man in der Annahme nicht fehl, dass nach Ausbildung des Blutgefässnetzes die Ernährungsbedingungen für die Glugeacysten noch günstiger sind als in den Jugendstadien, und dass eine reiche Zufuhr von Nahrungssäften nunmehr ein rapides Wachstum der Cystenbestandteile ermöglicht.

Soweit die Untersuchung von Cysten mittlerer Grösse von Glugea hertwigi ergeben hat — von ganz jungen Cysten stand mit Flemmingscher Flüssigkeit konserviertes Material noch nicht zur Verfügung — verlaufen hier die zur Bildung der Vakuolenzellen führenden Entwicklungsprozesse in ähnlicher Weise wie bei Glugea anomala.

Zusammenfassung.

In älteren Cysten von Glugea anomala ist eine Entwicklung von Primärschläuchen durch Verdichtung des Cystenplasmas um eine Primärzelle und Längsstreckung derselben nicht mehr zu beobachten. Die Primärzellen sind vielmehr jetzt durch eine Membran scharf gegen das Cystenplasma abgesetzt. Doch werden auch hier 8-, 16- und mehrkernige Schläuche und Kugeln gebildet, die wie die Sekundärschläuche junger Cysten in Flüssigkeitsvakuolen aufgenommen werden und durch Aufteilung Vakuolenzellen liefern. Sie entstehen in den älteren Cysten durch unmittelbares Wachstum der Primärzellen. Dasselbe scheint unter Flüssigkeitsaufnahme zu erfolgen und kann einer Aufblähung verglichen werden. Hand in Hand mit der Grössenzunahme erfolgt eine successive Kernteilung in ihnen, so dass aus den einkernigen Primärzellen erst zwei-, dann vier-, acht-, sechzehn- und mehr-

kernige Zellen werden. Von dem achtkernigen Stadium an kann eine Bildung von Vakuolenzellen erfolgen. Dieselben entsprechen ganz den Vakuolenzellen junger Cysten, nur besitzen sie keinen kompakten, sondern einen bläschenförmigen Kern.

Ein prinzipieller Unterschied zwischen den beiden Entwicklungsmodi ist nicht anzunehmen. Die Ausbildung des für die älteren Cysten charakteristischen Typus ist wahrscheinlich nur die Folge der vollkommenen Abgrenzung der Primärzellen gegen das Cystenplasma und steht vielleicht mit günstigeren Ernährungsbedingungen in den grösseren Cysten in Zusammenhang

IX.

Die Teilung der Vakuolenzellen in Sporoblasten und die Sporenbildung von Glugea anomala und hertwigi.

Die weiteren Entwicklungsprozesse, die zur Sporenbildung führen, spielen sich sämtlich innerhalb der Vakuolen des Plasmakörpers ab. Sie können in jeder wachsenden Glugeacyste verfolgt werden. Bei Glugea hertwigi verlaufen sie im Prinzip genau so wie bei Glugea anomala. Der Beschreibung sei jedoch zunächst wie bisher die letztere Art zugrunde gelegt.

Als Ausgangspunkt dienen die Vakuolenzellen, die durch den Zerfall der vielkernigen Plasmakörper entstanden sind, sei es dass diese in jungen Fällen aus Primärschläuchen, sei es in älteren Cysten aus Primärzellen ihren Ursprung nahmen. Es wurde bereits oben erwähnt, dass im allgemeinen die Kernstruktur der Vakuolenzellen einen Rückschluss auf ihre Genese gestattet. Sind sie von Primärschläuchen abzuleiten, so besitzen sie noch den ausgesprochen kompakten Bau der jungen Primärkerne, stellen in älteren Cysten Primärzellen in letzter Linie ihren Mutterboden dar, so zeigt der Kern mehr einen bläschenförmigen Typus (Taf. VI, Fig. 22). Sein Binnenraum erscheint hell. Von der dunkel gefärbten Kernperipherie springen einige intensiv gefärbte Brocken ins Innere vor, das bisweilen von schwächer tingierten Strängen durchsetzt wird. Häufig lässt sich ausserdem im Innern des Kernes ein besonders intensiv gefärbtes Körnchen erkennen, das in seiner Lage an das in vielen Protozoenkernen beschriebene Zentriol erinnert. Sehr regelmässige Bilder kommen dann zustande, wenn das intensiv gefärbte Körnchen genau zentral liegt und sich an der Kernperipherie fünf bis sechs dunkel gefärbte

Brocken regelmässig rosettenartig darum gruppieren. Dass die Begrenzung des Kernes im optischen Durchschnitt meist keine kreisförmige ist, sondern einem Vieleck entspricht, tritt in diesen Fällen besonders deutlich hervor, da dann die Ecken durch die dunkel gefärbten Brocken markiert werden. Auch die Gestalt der Zellen ist oft keine genau kugelförmige, sondern eine polyedrische (Fig. 22). Das Plasma zeigt namentlich nach dem Rande zu ein ziemlich dichtes Gefüge. In der Umgebung des Kernes erscheint es häufig heller. Für den Kerndurchmesser wurde auf Schnitten meist 1,4 μ, für den Zelldurchmesser 3—3,5 μ gefunden.

Die Vakuolenzellen stellen die Mutterzellen der Sporoblasten dar. Einige Zeit nach ihrer Entstehung durch Aufteilung der vielkernigen Plasmakörper in den Vakuolen beginnen die Vakuolenzellen, wie es Fig. 23, Taf. VI, demonstriert, synchron in Teilung einzutreten. Zunächst teilt sich der Kern, wieder unter Ausbildung einer typischen Hantelfigur, da die beiden Tochterkerne längere Zeit durch einen sich intensiv tingierenden Verbindungsfaden verbunden bleiben. In der Umgebung der kompakten Tochterkerne, die an die Pole der Zelle gerückt sind, erscheint das Plasma aufgehellt. Es konzentriert sich hauptsächlich in der äquatorialen Randpartie der Zelle. Hand in Hand mit einer Verlängerung des Verbindungsfadens der Tochterkerne streckt sich die Zelle dann mehr und mehr in die Länge. Der Verbindungsfaden beginnt sich blasser zu färben und schliesslich ganz zu schwinden. Gleichzeitig schneidet in der Äquatorebene der Zelle eine Furche ein, die die Vakuolenzelle in zwei Tochterzellen halber Grösse zerlegt.

Wie Fig. 24, Taf. VI, demonstriert, beginnt sich die kompakte Struktur der Tochterkerne jetzt etwas zu lockern. Die Kerne behalten die exzentrische polständige Lage, die sie unmittelbar nach der Teilung aufweisen, auch weiterhin bei. Auch die Aufhellungszone in ihrer Umgebung bleibt bestehen, so dass das Plasma vorwiegend am anderen Pole konzentriert ist. Man kann somit von einem Kern- und einem Plasmapole der kugeligen Zelle sprechen.

Ein Umformungsprozess führt bald darauf zu einer Verlängerung der die beiden Pole verbindenden Achse. Unter Verringerung des Breiten- und Höhendurchmessers beginnt die Zelle eine gestreckt ovale Form anzunehmen und sich damit der Gestalt

der Spore zu nähern. Sie dokumentiert sich bald immer deutlicher als sporenbildende Zelle oder Sporoblast. Bei dem Umformungsprozess erreicht das dem Plasmapol entsprechende Endstück der Zelle schliesslich einen etwas grösseren Umfang als das gegenüber liegende Endstück, an dem der Kern liegt. Es kommt somit die charakteristische Eiform der Spore zustande, bei der der Plasmapol dem stumpfen, der Kernpol dem spitzen Pol des Eies entspricht. Bei Glugea hertwigi sind die Sporoblasten von vornherein etwas grösser als bei anomala. Die Sporen werden dadurch hier länger. Auch nehmen sie eine etwas andere Form an, indem der spitze Pol relativ schmäler wird als bei anomala (cf. S. 90).

Schon kurz nach ihrer Entstehung durch Teilung der Vakuolenzellen lässt sich in den Sporoblasten im Bereich des Plasmabezirkes nach der Mitte der Zelle zu eine punktförmige Verdichtung im Protoplasma auffinden, die sich etwas intensiver nach Heidenhain färbt. Die Verdichtung liegt in der Achse der Zelle, also dort, wo vorher der Verbindungsfaden der Tochterkerne sichtbar war. Die verdichtete Stelle markiert sich bei der weiteren Umbildung der Sporoblasten immer stärker. Zuerst nur vom Umfang eines kleinen Körnchens, erscheint sie später als ein dunkler, schärfer abgesetzter Körper von halber Kerngrösse, der stets in der Achse des Sporoblasten in der Nähe des Plasmapoles liegt (Taf. VI, Fig. 11 sp). Bald scheint derselbe direkt im Plasma zu liegen, bald sieht man ihn von einer länglichen Vakuole umgeben, die ein wohlabgesetztes Bläschen im Plasma darstellt. Bemerkenswert erscheint, dass man bisweilen ganz am Rande des Sporoblasten am Plasmapole noch ein zweites kleineres dunkles Kügelchen sieht, das mit dem grösseren intensiv gefärbten Körper durch einen schwächer tingierten Strang in Verbindung stehen kann, so dass ein Bild entsteht, als sei vom Pole eine Einstülpung in den Sporoblasten hinein erfolgt.

In Ausnahmefällen kann der dunkle Körper sogar die ganze Grösse des Kernes erreichen. Dass es sich hier jedoch nicht um einen zweiten Kern handelt, dafür spricht erstens die allmähliche Entstehung nach Art einer stärker und stärker werdenden Plasmaverdichtung, zweitens aber auch der Umstand, dass der Körper sich bisher nur an den mit Flemmingscher Flüssigkeit konservierten Präparaten mit der Heidenhainfärbung nachweisen liess. Schnitte durch dieselben Cysten, mit Safranin-

Lichtgrün gefärbt, zeigen in den Sporoblasten wohl den Kern leuchtend rot, aber keine Safraninfärbung des eigentümlichen Körpers am Plasmapol.

Dagegen glaube ich, dass die beobachteten Strukturen zu der Anlage des Polfadens in Beziehung stehen können. In dem Bezirk, in dem sie beobachtet werden, breitet sich später die grosse Vakuole der Spore aus, die nach der allgemeinen Ansicht den ausschnellbaren Polfaden in vielen Windungen aufgerollt enthält. Auch die bei nahestehenden Sporozoen, den Myxosporidien, für die Genese des Polfadens gegebenen Beschreibungen erinnern in mancher Beziehung an die hier beobachteten Strukturen. Wie Auerbach in seiner Monographie der Cnidosporidien (1910) zusammenfassend bemerkt, wird bei der Polfadenbildung der Myxosporidiensporen in ein Vakuolenbläschen ein Plasmazapfen eingestülpt, der eine birnförmige Gestalt hat und schliesslich abgeschnürt in die Vakuole zu liegen kommt. Um den Körper scheidet sich dann eine Membran ab und sein Inneres wandelt sich in einen spiralig aufgerollten Faden um.

Leider entziehen sich die weiteren Umbildungsprozesse am Plasmapole der Beobachtung dadurch, dass wohl in Zusammenhang mit dem Auftreten der Sporenhülle sich die ganze Zelle nach Heidenhain tiefschwarz färbt und bei länger fortgesetzter Differenzierung die Farbe gleichmässig abgibt, so dass innere Strukturen sich nicht zur Darstellung bringen lassen (Taf. VI, Fig. 11 b).

Nachdem somit die Bildungsprozesse am Plasmapol, soweit es möglich war, verfolgt wurden, muss auf das Verhalten des am anderen Pol gelegenen Kernes eingegangen werden. Bei der Streckung des Sporoblasten verliert der Kern allmählich das kompakte Gefüge und wird wieder mehr bläschenförmig (Taf. VI, Fig. 11 sp). Im Innern kann ein intensiv färbbares Korn wie in dem Ruhekern der Vakuolenzellen hervortreten. Auch die hauptsächlich an der Kernperipherie gelegenen Chromatinbrocken können wieder sichtbar werden. Nach Alkohol-Eisessig-Fixation treten sie sogar bei Gl. hertwigi bisweilen allein deutlich hervor und liegen dann scheinbar isoliert in der den Kern umgebenden Aufhellungszone. Es kann dadurch leicht die Vorstellung erweckt werden, dass der Kern in mehrere Stücke, so in Fig. 25, Taf. VI, in drei Stücke zerfällt. In den nach Flemming konservierten Präparaten

ist es jedoch in keinem Stadium zweifelhaft, dass der Kern als ein allseitig scharf begrenztes geschlossenes Bläschen persistiert.

Späterhin verschwindet die Aufhellungszone in der Umgebung des Kernes und gleichzeitig damit beginnt der Kern seine Lage zu verändern und vom Pole mehr nach der Mitte des Sporoblasten zu zu rücken. Ein entsprechendes Stadium von Gl. hertwigi, mit Alkohol-Eisessig fixiert, ist in Fig. 26 dargestellt. Der Kern erscheint hier als ein einheitlicher Körper in der Mitte des Sporoblasten. Die starke Vakuolarisierung, die in Fig. 26 ebenso wie in Fig. 25 am Plasmapol hervortritt, muss wohl durch die Fixation bedingt sein. Denn nach Flemmingkonservierung sieht man hier vielmehr die oben beschriebenen Strukturen, die aller Wahrscheinlichkeit nach mit der Polfadenbildung im Zusammenhang stehen (Fig. 11 sp).

Nachdem der Kern als einheitlicher Körper eine mehr zentrale Lage angenommen hat, lässt sich leider seine weitere Entwicklung in den Flemmingpräparaten, die zweifellos die Strukturen am getreuesten fixiert zeigen, nicht mehr verfolgen. Denn wie bereits oben erwähnt, beginnt nunmehr die äussere Zellmembran sich zur Sporenhülle zu verdicken und wohl im Zusammenhang damit sowohl bei der Heidenhain- wie bei der Safraninmethode eine nicht differenzierbare Überfärbung der ganzen Zelle einzutreten (Taf. VI, Fig. 11 b).

Bezüglich der weiteren Entwicklung des diffus gefärbten Stadiums kann man an Flemmingpräparaten nur noch konstatieren, dass späterhin am stumpfen Pole eine grosse Vakuole auftritt, deren Inhalt schon bei kurzer Differenzierung farblos erscheint. Sie hebt sich somit aufs schärfste aus der im übrigen noch ganz schwarz gefärbten Zelle heraus. Damit hat sich das diffus gefärbte Stadium des Sporoblasten in eine junge Spore umgewandelt. Die Vakuole kann sich vom stumpfen Pol fast bis zur Mitte der Spore erstrecken. Ihre Grenzfläche gegen das Plasma erscheint im optischen Durchschnitte meist als gerade quer verlaufende Linie oder wölbt sich ein wenig gegen das Plasma vor.

An etwas älteren Sporen kann man im ungebleichten Flemmingpräparat eine intensive Braunfärbung konstatieren, die wie bei den jungen Sporen von Nosema lophii durch eine Osmiumbräunung der Sporenhülle bedingt erscheint. Auf diesem

Stadium tritt bisweilen auch am spitzen Pol eine zweite Vakuole auf, die jedoch nur ein geringes Volumen erhält und daher stets als die „kleine Vakuole“ deutlich von der „grossen“ am stumpfen Pol unterschieden werden kann.

Zusammenfassung.

Die Sporenbildung vollzieht sich in den Vakuolen der Rindenschicht der Cysten. Jede Vakuolenzelle teilt sich in zwei Sporoblasten. Die Teilung der Zellen einer Vakuole vollzieht sich dabei synchron. Die Sporoblasten sind zunächst kugelförmig, strecken sich dann in die Länge und nehmen die Eiform der Spore an. Der Kern bewahrt zunächst eine exzentrische Lage an dem einen Pol der Zelle. Dieser wird zum spitzen Pol der Spore. — Der Kern stellt einen einheitlichen kugeligen Körper dar, der auf Flemmingpräparaten einen bläschenförmigen Typus zeigt. In der Nähe des stumpfen Poles des Sporoblasten tritt eine Verdichtung auf, die wahrscheinlich zu der Ausbildung des Polfadens in Beziehung steht. Allmählich rückt der Kern mehr nach der Mitte der Zelle zu. Die weiteren Veränderungen in den Sporoblasten lassen sich an Flemmingpräparaten nicht verfolgen. Wahrscheinlich im Zusammenhang mit dem Auftreten der Sporenhülle beginnt sich nämlich die ganze Zelle diffus zu färben. Die Umwandlung des Sporoblasten in die Spore markiert sich dann lediglich durch das Auftreten einer grossen Vakuole am stumpfen Pol. Etwas ältere Sporen weisen nach Flemmingfixation eine intensive Braunfärbung auf. Bisweilen wird auf diesem Stadium eine kleine Vakuole am spitzen Pol sichtbar.

X. Das Verhalten des Kernes in den beschalten Sporoblasten und den Sporen nebst Bemerkungen über die durch die Präparationsmethoden bewirkten Veränderungen dieser Stadien.

Es kann keinem Zweifel unterliegen, dass die bei Flemming-Fixation beobachteten Bilder der Sporen sich relativ wenig von den im frischen Präparat konstatierbaren Verhältnissen entfernen. Die grosse Vakuole ist, wie Fig. 28, Taf. VII, demonstriert, stets auch schon an den lebenden Sporen zu erkennen und zwar in einer Grösse, die den im Flemming-Präparat beobachteten Volumenverhältnissen gut entspricht. Eine kleine Vakuole am

spitzen Pole tritt erst nach Zusatz von Reagenzien, zum Beispiel verdünnter Essigsäure, auf. Ein solches Präparat ist in Fig. 29 dargestellt. Die kleine Vakuole stellt somit offenbar ein Kunstprodukt dar. Bei der Fixation nach Flemming zeigen aber nur wenig Sporen eine kleine Vakuole und falls dieselbe auftritt, bleibt sie stets von so geringer Ausdehnung, dass die Chrom-Osmium-Essigsäure hier zweifellos als eine Fixationsflüssigkeit bezeichnet werden kann, die die natürlichen Verhältnisse nur wenig abändert. Noch als ein relativ gutes Fixationsmittel für die Sporen wird zehnprozentiges Formalin gelten können.

Erheblich mehr entfernen sich dagegen zweifellos von den natürlichen Verhältnissen Präparate, die mit Sublimatalkohol nach Schaudinn oder Alkohol-Eisessig konserviert sind. Die Vakuole am spitzen Pol tritt hier bisweilen in solcher Ausdehnung auf, dass es auf dünnen Schnitten manchmal zweifelhaft sein kann, welches die „grosse" und welches die „kleine" Vakuole ist. Das Sporenplasma scheint dann im wesentlichen auf eine schmale zentrale Zone reduziert. Die starken Veränderungen, die durch die genannten Fixationsmittel hervorgerufen werden, erscheinen angesichts des Umstandes sehr bedauerlich, dass gerade diese Gemische in ausgezeichneter Weise die Anwendung der Biondi-Färbung gestatten, die wie keine zweite geeignet ist, die Kern- und Plasmaverhältnisse auch in den beschalten Stadien distinkt zur Darstellung zu bringen. Man wird die nach diesen Methoden erhaltenen Präparate unter diesen Umständen nur mit Vorsicht verwerten können. Immerhin vermögen sie einen Einblick in Stadien zu gewähren, die nach Flemming-Fixation überhaupt nicht auflösbar sind. Somit wird es gerechtfertigt erscheinen, wenn an der Hand einer Reihe von Abbildungen etwas genauer auf sie eingegangen wird.

Was zunächst das Stadium des jung beschalten Sporoblasten anbetrifft, in dem auf Flemming-Präparaten die diffuse Färbung einzutreten beginnt (Taf. VI, Fig. 11 b), so habe ich entsprechende Bilder, in denen noch nichts von einem Hervortreten der grossen Sporenvakuole zu sehen ist, in Alkohol-Eisessig-Präparaten nicht auffinden können. Vielmehr zeigen die in Fig. 31, Taf. VII, und Fig. 30 bei b abgebildeten beschalten Formen, die ich am ehesten auf dieses Stadium beziehen möchte, immer schon eine grosse Vakuole am stumpfen Pol, der, wie oben ausgeführt, mit dem Plasmapole jüngerer Stadien identisch ist.

Allerdings könnte es zunächst fraglich erscheinen, ob die grosse Vakuole tatsächlich bereits der grossen Sporenvakuole entspricht oder nicht lediglich ein Schrumpfungsphänomen ist. Im ersteren Falle würde man anzunehmen haben, dass der Polfaden, der der herrschenden Anschauung nach in Spiraltouren in der grossen Vakuole aufgerollt ist, auf Flemmming-Präparaten sich zu dieser Zeit noch mitfärbt, nach der anderen Methode dagegen entweder gar nicht oder nicht färbbar fixiert ist. Es sei hier daran erinnert, dass auch bereits jüngere Sporoblastenstadien mit Alkohol-Eisessig fixiert im Bereich des Plasmapoles an Stelle der auf die Polfadenbildung bezogenen Struktur der Flemming-Präparate eine Vakuolenbildung aufwiesen (Taf. VI, Fig. 25 und 26).

Aber auch die zweite Möglichkeit, dass es sich lediglich um ein Schrumpfungsphänomen handeln könnte, ist in Betracht zu ziehen, um so mehr als wesentliche Teile des Sporoblasten zweifellos geschrumpft sind. Zu einer genaueren Analyse dieser Verhältnisse wird am besten Fig. 31, Taf. VII — ein mit Alkohol-Eisessig fixierter Sporoblast eines Schnittpräparates — mit der in Fig. 28 gegebenen Abbildung frischer Sporen verglichen.

Es sei dabei ganz davon abgesehen, dass der Sporoblast auch im ganzen offenbar durch die Paraffineinbettung an Volumen verloren hat. Wesentlich erscheint nur, dass die Zelle vor allem ungleichmässig geschrumpft ist und sich ihr protoplasmatischer Inhalt grösstenteils von der in den Figuren als graue Linie markierten Membran zurückgezogen hat. Eine ähnliche Schrumpfung ist auch an den Sporen des gleichen Falles (Fig. 30 s) zu konstatieren.

Dass die Bilder als in diesem Sinne verändert gedeutet werden müssen, und nicht etwa als Stadien mit besonders dicker doppelt konturierter Membran aufgefasst werden können, lehrt ein Blick auf frische Präparate lebender Sporen, wie sie in der Fig. 28, Taf. VII, dargestellt sind. Bei der Untersuchung in Wasser lässt sich an ihnen, wie die Abbildung demonstriert, ausnahmslos nur eine schmale Membran erkennen.[1])

In diesem Zusammenhang also könnte man daran denken, dass auch die grosse Vakuole des Sporoblastenstadiums nichts anderes sei als eine besonders starke Schrumpfungserscheinung am stumpfen Pole, dass sie somit gar nicht innerhalb, sondern

[1]) Von einer dicken Sporenhülle, wie sie Stempell beschrieb, habe ich mich in den Präparaten nie überzeugen können.

ausserhalb des Plasmakörpers zwischen diesem und der Membran gelegen sei.

Der Vergleich mit den sich anschliessenden Sporenbildern der gleichen Fixation macht es jedoch wahrscheinlicher, dass sich vom Zellkörper ein schmaler Plasmaüberzug auf die Vakuole fortsetzt, sie allseitig umgibt und sich dabei der äusseren Membran dicht anschmiegt. Somit gelange ich zu der zuerst erörterten Anschauung, dass die Vakuole des beschalten Sporoblastenstadiums der grossen Vakuole der Spore homolog ist, in der sich nach den meisten Autoren der aufgerollte Polfaden befindet. Da der zusammengezogene protoplasmatische Inhalt des Sporoblasten mit der Vakuole darüber das Bild eines Bechers darbietet, so mag das ganze Stadium kurz als das „Becherstadium" bezeichnet werden.

Es ist nun von wesentlichem Interesse, dass der Kern nach der Biondi-Methode dargestellt, sich auch auf dem Becherstadium noch als ein einheitlicher runder Körper repräsentiert (Fig. 31, 30 b, Taf. VII). Mit Methylgrün gefärbt, schimmert er als blaugrüne Scheibe deutlich durch das je nach der Lichtquelle mehr orange oder ziegelrot erscheinende Plasma durch. Die enorme Überlegenheit, die die Biondi-Methode bei der Färbung beschalter Stadien gegenüber dem Eisenhämatoxylin nach Heidenhain besitzt, geht aufs deutlichste durch einen Vergleich der Fig. 31 (Biondi-Präparat) mit Abbildung 27, Taf. VI, hervor, die ein Becherstadium des gleichen Falles nach Heidenhain tingiert darstellt. Auch bei stärkerer Differenzierung ist hier lediglich der schwarze Protoplasmabecher innerhalb einer stark lichtbrechenden, als graue Konturlinie erscheinenden Membran zu erkennen.

Der Übergang des Becherstadiums in die Spore markiert sich in den nach der Alkohol-Eisessig-Methode konservierten und in Paraffin eingebetteten Präparaten durch Ausbildung der kleinen Vakuole am spitzen Pol. Gleichzeitig zieht sich der Plasmaüberzug der Spore jetzt meist auch am stumpfen Pole etwas von der Sporenmembran zurück (Fig. 37 s, Taf. VII). Von besonderem Interesse ist die Aufdeckung der Kernverhältnisse in den Sporen mittels der Biondi-Färbung. Ehe jedoch auf die erhaltenen Befunde näher eingegangen werden kann, müssen einige Worte über die bisherigen Ergebnisse der Kerndarstellung in den Sporen vorausgeschickt werden.

Die Frage der Kernverhältnisse der Microsporidiensporen muss zurzeit als eine noch recht offene bezeichnet werden. Nur für wenige Formen liegen bisher eingehende und einwandsfreie Untersuchungen vor. Unter dem Einfluss der Beobachtungen an Myxosporidiensporen, die übereinstimmend eine Vielkernigkeit dieser Gebilde ergaben, haben sich zunächst die meisten Microsporidienforscher bemüht, auch in den Mikrosporidiensporen mehrere Kerne aufzufinden. So sind u. a. in Glugea anomala von Stempell 1904 vier Kerne beschrieben worden, die im optischen Längsschnittsbild der Spore an den vier Ecken des Plasmagürtels ihren Sitz haben sollten. Zu ähnlichen Resultaten ist Stempell (1909) an den Sporen von Nosema bombycis, dem Pébrine-Erreger, gelangt, und auch Schröder hat 1909 an Thélohania chaetogastris sich mit Wahrscheinlichkeit für den Befund mehrerer Kerne in den Sporen ausgesprochen. Desgleichen hat Mercier (1908) mehrere Kerne in den Sporen von Thélohania giardi beschrieben. Die Kerne wurden in diesen Fällen teils als Amöboidkeim-, Polkapsel- und Schalenkerne, teils als in der Mehrzahl vorhandene Amöboidkeimkerne aufgefasst.

Einen Markstein in der Microsporidienforschung bedeutet die Arbeit von Schuberg (1910) über Plistophora longifilis. An dem durch besonders grosse Sporen ausgezeichneten Objekt konnte er mittels einer modifizierten Giemsa-Färbung stets nur einen einzigen Kern im Plasmagürtel auffinden. Sein Verdienst ist es, dass er damit durch klare vorurteilsfrei erhobene Befunde den Bann durchbrach, es müssten unbedingt bei allen Microsporidien entsprechend Verhältnisse wie bei den Myxosporidiensporen gefunden werden, dass er namentlich auf die Notwendigkeit hinwies, bei der Sporenfärbung regressive Färbemethoden möglichst zu vermeiden, und eine bisher nicht genügend beachtete Fehlerquelle für die Beurteilung der Kernverhältnisse in den „metachromatischen Körnern" der Microsporidiensporen aufdeckte. Es handelt sich dabei um in den Vakuolen auftretende Körner und Klumpen, die sich nach Giemsa wie der Kern purpurrot und auch nach manchen anderen Methoden ebenso wie die Kerne färben, offenbar aber nichts mit ihnen zu tun haben. Metachromatische Körner sind auch bei zahlreichen anderen Protisten u. a. von Erdmann in den Sporen von Sarcosporidien aufgefunden worden.

Mit der von Schuberg angegebenen Giemsa-Methode konnte ich an den Glugeasporen, obwohl die gleiche Alkohol-Eisessig-Fixation angewandt worden war, keine Kernfärbung erzielen. Dagegen glückte es, in der Färbung nach Biondi (cf. Seite 90) eine Methode aufzufinden, die eine klare Kerndarstellung in den Sporen ermöglicht. Mit grosser Konstanz wurden dabei Resultate erhalten, die sich gut den Schubergschen Ergebnissen von der Einkernigkeit der Microsporidiensporen anschliessen. Bezüglich der Lage und Form des Kernes ergeben sich allerdings einige Abweichungen.

Der Kern von Plist. longifilis stellt nach Schuberg einen kugeligen Körper dar, der in dem hier gürtelartig angeordneten Plasma gelegen ist. Mit diesem Befund liesse sich am ehesten der runde Kern des Becherstadiums von Glugea vergleichen (Taf. VII, Fig. 31, 30 b). In den Sporen von Glugea anomala und hertwigi ergibt sich nach der Biondi-Färbung meist ein anderes Bild. Wie Fig. 30 s, in fünf Fällen, sowie Fig. 32, demonstriert, stellt sich der Kern als ein quer verlaufender Streifen dar, der regelmässig an der Grenze des Protoplasmas und der grossen Vakuole gelegen ist. Durch seine blaugrüne Färbung mit Methylgrün hebt er sich im optischen Längsschnittsbild der Spore deutlich vom Protoplasma ab, das durch Säurefuchsin und Orange einen rötlichen Farbenton angenommen hat. Schwieriger ist das Querschnittsbild der Spore zu beurteilen. Der blaugrüne Schimmer des Methylgrüns wird hier zu sehr durch die kräftigere Färbung des darunter liegenden Protoplasmas beeinträchtigt. Somit wäre es an Biondi-Präparaten allein kaum zu entscheiden, ob der Kernstreifen im optischen Längsschnittsbilde der Spore die Kantenansicht einer Scheibe, eines Stabes oder eines Ringes darstellt.

Unter diesen Umständen ist es von wesentlichem Interesse, dass die Kerndarstellung auch noch auf eine andere Methode, nämlich durch Färbung mit Delafieldschem Hämatoxylin gelingt. Eine Färbung der Schnitte von zehn Minuten ergibt — am besten ohne weitere Differenzierung — bei Alkohol-Eisessig-Präparaten, ganz besonders deutlich aber bei Sporen, die mit zehnprozentigem Formalin konserviert sind, ein Bild, das sich auf das Beste dem nach der Biondi-Methode erhaltenen anschliesst.

Auf Taf. VII, in Fig. 34, ist dasselbe für die Sporen von Glugea hertwigi dargestellt. Während das Plasma eine zarte blaue

Färbung angenommen hat, findet sich an der Grenze zur grossen Vakuole ein tief dunkelblauer Streifen, der in seiner Lage und Form völlig dem in den Biondi-Präparaten mit Methylgrün gefärbten Kern entspricht.

Die Delafield-Präparate bestätigen jedoch nicht nur den nach der Biondi-Methode erhaltenen Befund, sondern ergänzen ihn in wertvoller Weise. Einmal ist es möglich, an den Formalin-Delafield-Präparaten, die weniger geschrumpft sind als die mit Alkohol-Eisessig konservierten Sporen, zu erkennen, dass der Kern zwar an der Grenze von Plasma und grosser Vakuole, aber doch noch deutlich innerhalb der Plasmazone gelegen ist. Dann ermöglicht aber auch vor allem die intensivere Färbung des Kernes ein genaueres Studium des optischen Querschnittsbildes der Spore. Die dabei erhaltenen Bilder sprechen dafür, dass der Sporenkern in den meisten Fällen einen geschlossenen Ring darstellt (Taf. VII, Fig. 35 r), der in das Plasma an der Grenze zur grossen Vakuole eingelagert ist und an ungeschrumpften Präparaten unmittelbar unter der Sporenhülle liegt. Dass innerhalb des Kernringes auch das Protoplasma noch eine zentrale Durchbohrung besitzt, vermöge deren grosse und kleine Vakuole, wie es Schuberg beschreibt, kommunizieren würden, habe ich nicht mit Sicherheit aus dem Querschnittsbilde entnehmen können. Freilich liegen die Verhältnisse für die Beobachtung hier viel ungünstiger als bei den bedeutend grösseren Sporen von Plist. longifilis mit ihrem nur auf eine schmale Zone beschränkten Plasma. Eine dritte wertvolle Ergänzung der Ergebnisse der Biondi-Präparate liegt darin, dass die Delafieldsche Hämatoxylinfärbung gleichzeitig auch die metachromatischen Körner zur Darstellung bringt (Taf. VII, Fig. 35), auf die in den Microsporidiensporen Schuberg aufmerksam gemacht hat. Wie bereits erwähnt, wies Schuberg darauf hin, dass sie leicht zu Verwechslungen mit dem Kern Veranlassung geben können. So fand er bei Plist. longifilis Kern und metachromatische Körner nach Giemsa in dem gleichen purpurroten Farbenton gefärbt.

Eine Gefahr, die metachromatischen Körner mit dem Kern zu verwechseln, liegt bei der Anwendung von Delafieldschem Hämatoxylin nach der oben angegebenen Methode für die Glugeasporen nicht vor. Denn hier färben sich die Körner im Gegensatz zu dem tiefblauen Kern ausgesprochen rot. Diese Meta-

chromasie ist in undifferenzierten Präparaten bereits deutlich zu konstatieren. Eine noch kräftigere Rotfärbung wurde in Präparaten erhalten, die in salzsaurem Alkohol differenziert und darauf mit ammoniakalischem Alkohol bis zur Blaufärbung des Schnittes behandelt worden waren (Taf. VII, Fig. 35 g).

Die metachromatischen Granulationen bilden meist einen einheitlichen Klumpen in der grossen Vakuole. Nach Giemsa färben sie sich aufs intensivste purpurrot, während der Kern in diesen Fällen wie das Plasma eine blaue Färbung annimmt und sich nur manchmal als dunklerer Streifen markiert (Taf. VII, Fig. 33). An den Alkohol-Eisessig-Giemsa-Präparaten ist dabei häufig der Innenrand der abgehobenen Membran rings um die metachromatischen Klumpen gleichfalls rot gefärbt — eine Erscheinung, die sich durch Schrumpfung der metachromatischen Masse, die zunächst bis an die Membran heranreichte, ohne weiteres erklärt. Ein schmaler Belag der metachromatischen Substanz ist offenbar der Membran resp. dem sie bekleidenden Plasmaüberzug noch anhaften geblieben.

Stempell hat in Präparaten, die nach einer kombinierten Delafield-Giemsa-Methode gefärbt waren, gleichfalls 1—2 purpurrote Körper in der grossen Vakuole gefunden, die roten Klumpen jedoch als Kerne junger Sporen beschrieben. Aus den Abbildungen Stempells scheint es mir klar hervorzugehen, dass er, wie auch schon Schuberg vermutete, durch die metachromatischen Granulationen getäuscht wurde.

In älteren Sporen hat Stempell durch lang ausgedehnte und dann stark mit salzsaurem Alkohol differenzierte Delafield-Färbung vier Kerne gefunden, die im optischen Längsschnittsbild die vier Ecken der Plasmazone einnehmen. Es ist möglich, dass die beiden nach der grossen Vakuole zu gelegenen „Kerne" den optischen Durchschnitt des Kernringes darstellen. Bei schwacher Färbung mögen sich wohl die annähernd senkrecht zur Ebene des Objektträgers verlaufenden Bogenstücke noch am deutlichsten markieren. Was die beiden entsprechenden an den Ecken der Plasmazone nach der kleinen Vakuole zu gelegenen „Kerne" anbetrifft, so kann nicht bestritten werden, dass sich bisweilen in den Delafield-Präparaten an dieser Stelle, meist aber nur einseitig, etwas dunkler gefärbte Verdichtungen im Plasma zeigen (Taf. VII, Fig. 34 v). Davon aber, dass es sich hier um einen

oder zwei separate kleine Kerne handeln könnte, habe ich mich bisher nicht überzeugen können, denn einmal sind sie in meinen Delafield-Präparaten nicht so intensiv gefärbt wie der Kerngürtel, zweitens habe ich in Biondi-Präparaten eine Methylgrünfärbung an dieser Stelle der Spore bisher nicht beobachtet. Auch muss berücksichtigt werden, dass die kleine Vakuole der Glugeasporen doch im wesentlichen ein Kunstprodukt darstellt und dass Strukturen auf dieser Seite daher mit besonderer Vorsicht zu beurteilen sind. Schliesslich hat die Beobachtung der Sporenentwicklung bisher keinen Anhalt dafür gegeben, dass der einheitliche Kern des Becherstadiums späterhin in einen grossen und ein oder zwei kleine Kerne zerfiele.

Freilich kann das Studium der letzten Phasen der Sporenentwicklung, da es bisher lediglich an Alkohol-Eisessig-Präparaten erfolgen konnte, noch nicht als ein abgeschlossenes betrachtet werden. Die Vorstellung, die ich aus Präparaten nach dieser Methode gewonnen habe, geht dahin, dass das Becherstadium sich unter Auftreten der kleinen Vakuole und Zurückziehen der grossen von der äusseren Sporenmembran in eine junge Spore umwandelt. Diese besitzt zunächst noch den kugeligen zentral gelegenen Kern des Becherstadiums. Derselbe scheint dann zu einem Bügel auszuwachsen, der, wie ein Hufeisen gekrümmt, sich an der Grenze von Plasma und grosser Vakuole der Membran dicht anschmiegt, das Plasma umwächst und sich schliesslich zu einem Ring schliesst. Das Stadium, auf dem der Kern Bügelgestalt durchläuft, scheint, wenn nur auf die Spitzen des Bügels eingestellt wird, besonders geeignet, den Eindruck von zwei getrennten Kernen an der grossen Vakuole im Sinne Stempells hervorzurufen.

Die Ausführungen über die Kernverhältnisse in den Glugeasporen lassen sich kurz dahin zusammenfassen, dass sich nur ein unzweifelhafter Kern nachweisen lässt, der in den ausgebildeten Sporen die Gestalt eines Gürtels besitzt. Seine Chromatinnatur kann durch die Methylgrünfärbung als sichergestellt gelten.

Die eigentümliche Gestalt des Kernes scheint in Beziehung zur Lage und zum Ausgeschnelltwerden des Polfadens zu stehen. Nach der herrschenden Auffassung (Schuberg, Stempell) ist nämlich einerseits der Polfaden — im allgemeinen optisch nicht darstellbar — in spiraligen Windungen in der grossen Vakuole

aufgerollt. Andererseits unterliegt es keinem Zweifel, dass der Austritt des Polfadens beim Ausschnellen am spitzen und nicht am stumpfen Pol erfolgt. So kann man bisweilen in Cysten von Glugea hertwigi und anomala, die erst einige Stunden nach dem Tode des Fisches untersucht werden, sowie in Präparaten, zu denen etwas verdünnte Jodlösung zugesetzt wurde, konstatieren, dass am spitzen Pol ein etwa 100 μ langer Faden ausgetreten ist. Die Austrittsstelle liegt ein wenig symmetrisch, wie auch schon Stempell angab. Dass nicht etwa nach dem Ausschnellen des Fadens die Sporen ihre Form verändert haben, sondern der Austritt ganz sicher am spitzen Pol erfolgt, geht aus Ausstrichpräparaten hervor, die nach der Biondimethode gefärbt wurden. Stets wurde hier der Austritt des Fadens an dem dem Kern abgewandten Pole konstatiert. Damit nun der in der grossen Vakuole am stumpfen Pole aufgerollte Faden am spitzen Pole austreten kann, muss er die Achse der Spore durchsetzen. Nach den Beobachtungen Schubergs findet sich eine entsprechende zentrale Durchbohrung des Plasmas bei den Plistophorasporen. Für die Glugeasporen, bei denen im Querschnittsbild eine Kommunikation der grossen und kleinen Vakuole sich nicht mit Sicherheit nachweisen liess, wird man, wenn eine zentrale Durchbohrung des Plasmas tatsächlich fehlen sollte, annehmen können, dass das Plasma für den Durchtritt des Polfadens kein Hindernis bildet.[1]) Anders stünde es, wenn der Kern als eine solide Scheibe die grosse Vakuole gegen das Plasma absperren würde. Dass er in Wirklichkeit eine zentral durchbohrte Scheibe, einen Gürtel, darstellt, scheint somit als zweckmässige Einrichtung für den Durchtritt des Polfadens aufgefasst werden zu können.

Zum Schluss noch einige Worte über die Ausbildung der Sporen in Gruppen, die aus dem Zerfall der vielkernigen Schläuche innerhalb der Vakuolen resultiert. Da jede Vakuolenzelle zwei Sporoblasten liefert, so wird eine Vakuole schliesslich stets die doppelte Anzahl von Sporen enthalten, als Kerne in dem sich auf-

[1]) Es sei hier erwähnt, dass wie Fig. 34, Taf. VII, in drei Fällen demonstriert, sich in den mit Formalin konservierten und mit Hämatoxylin gefärbten Sporen öfters ein Strang nachweisen lässt, der vom spitzen Pol durch die kleine Vakuole zum Plasma zieht. Ein ganz entsprechendes Bild hat Schuberg bei Plist. longifilis als das Anfangsstück des Polfadens gedeutet.

teilenden Schlauche vorhanden waren. Während man auf Schnittpräparaten die Abgrenzungen der einzelnen Vakuolensporengruppen nicht immer deutlich erkennen kann und die Sporen namentlich in der zentralen Partie oft in grosser Menge ungeordnet durcheinander zu liegen scheinen, kann man an frischen Zupfpräparaten in der ausquellenden Cystenflüssigkeit häufig nicht isolierte Sporen, sondern regelmässige Sporenballen konstatieren, die in der Zahl der sie zusammensetzenden Elemente den Sporengruppen der einzelnen Vakuolen zu entsprechen scheinen.

Unter diesem Gesichtspunkte habe ich in einer vorläufigen 1911 erschienenen Mitteilung den Zusammenschluss der Sporen in Sporenkugeln als das natürliche, die isolierte Lage im Schnitt als das künstlich abgeänderte Verhalten aufgefasst. Weitere Untersuchungen an ganz frischen, dem lebenden Fisch exstirpierten Knoten haben jedoch gezeigt, dass in lebensfrischen Präparaten in der Cystenflüssigkeit noch keine Sporenballen, sondern nur isolierte Sporen anzutreffen sind. Erst nach einigen Minuten legen sich die Sporen zu regelmässigen Kugelhaufen zusammen. Vielleicht liegt hier ein ähnliches Phänomen vor, wie es die roten Blutkörperchen in der bekannten „Geldrollenbildung" schon kurze Zeit nach dem Anfertigen eines frischen Blutpräparates zeigen.

Der Zusammenschluss der benachbarten Zellen zu Kugelballen erfolgt indessen auch in der ungeöffneten Glugeacyste kurze Zeit nach dem Sistieren der Zirkulation des Fisches, und soweit überhaupt noch Vakuolenabgrenzungen vorhanden waren, wird dann tatsächlich jeder Ballen den Zellen einer einzigen Vakuole entsprechen. Untersucht man den Inhalt einer solchen Cyste, so besteht zweifellos die im vorigen Jahre ausgesprochene Ansicht zu Recht, „dass der genetische Zusammenhang unter den Sporen einer Vakuole auch äusserlich durch den Zusammenschluss in einer Sporenkugel offensichtlich zum Ausdruck kommt".

Zusammenfassung.

An frischen Präparaten lebender Sporen ist nur die grosse Vakuole am stumpfen Pol zu erkennen, die kleine Vakuole am spitzen Pol tritt erst nach Zusatz von Reagenzien auf. Sporen, die mit Alkohol-Eisessig konserviert sind, zeigen eine Vakuole am spitzen Pol oft in grosser Ausdehnung und entfernen sich somit zweifellos beträchtlich von den natürlichen Verhältnissen. Sie

bieten jedoch gegenüber den besser konservierten Flemming-Präparaten den grossen Vorteil, mittels der Biondi-Färbung auch in den beschalten Stadien eine Kerndarstellung zu ermöglichen.

Nach diesen Methoden repräsentiert sich der Kern in den beschalten Sporoblasten („Becherstadium") als ein einheitlicher runder Körper, der in der Mitte der Zelle gelegen ist. In den Sporen stellt er im optischen Längsschnittsbild einen an der Grenze von Plasmazone und grosser Vakuole gelegenen Streifen dar. Wie das Studium von mit Delafieldschem Hämatoxylin gefärbten, mit Formalin konservierten Sporen ergibt, handelt es sich hier um die Kantenansicht eines Kernringes.

In der grossen Vakuole finden sich öfter metachromatische Klumpen, die offenbar von Stempell für die Kerne junger Sporen angesehen wurden. — Der Polfaden kann durch verdünnte Jodlösung am spitzen Pol zum Ausschnellen gebracht werden. — In exzidierten Cysten oder in frischen Präparaten auf dem Objektträger tritt nach kurzer Zeit ein Zusammenballen der in den einzelnen Vakuolen enthaltenen Sporen oder Sporoblasten zu regelmässigen Kugelhaufen ein.

XI. Die Entwicklung der „vegetativen Kerne" der Glugeacysten.

Wie in den Abschnitten VI—IX ausgeführt wurde, stellen in den Glugeacysten den ersten Ausgangspunkt der Sporenbildung lediglich die Primärschläuche resp. die Primärzellen dar. Die vegetativen Kerne, von denen Awerinzew und Fermor und vor ihnen Stempell die Elemente der Sporenbildung ableiten wollten, kommen meinen Befunden nach für kein Entwicklungsstadium der Sporogonie als Mutterboden in Betracht. Vielmehr scheinen sie eine ganz selbständige Entwicklungsreihe zu bilden und ihren Ausgangspunkt in den unregelmässigen Brocken färbbarer Kernsubstanz zu besitzen, die aus dem jüngsten der beobachteten Fälle (S. 111) genauer beschrieben wurden. Wie an Fig. 10 auf Taf. IV demonstriert werden konnte, liegen die Chromatinbrocken[1]) hier meist in Stränge von verdichtetem Plasma

[1]) Der Ausdruck Chromatinbrocken sei hier nur der Kürze halber für „Brocken färbbarer Kernsubstanz" gebraucht. Es soll damit nicht behauptet werden, dass sie ganz aus echtem Chromatin bestehen. Auf Grund der weiteren Entwicklung ist es sogar wahrscheinlicher, dass sie sowohl Basichromatin wie Nukleolarsubstanz enthalten.

eingeschlossen, die eine Länge von 30 μ, eine Breite von 1,7 μ erreichen und miteinander mannigfach anastomosieren können.

In der jungen, Seite 114 genauer beschriebenen Glugeacyste, die durch ihren reichen Gehalt an Primärschläuchen den unmittelbaren Anschluss an den jüngsten Fall ermöglichte, können mit leichter Mühe Gebilde aufgefunden werden, die ausserordentlich an jene Chromatinbrocken und Plasmastränge der Primärcyste erinnern. Wie die Figuren 11 und 36 (e) Taf. VI, demonstrieren, treten auch hier mit Kernfarbstoffen intensiv tingierbare Körper auf, die sich von den kugelförmigen Primärkernen durch ihre unregelmässige und ganz variable Gestalt unterscheiden. Bald erreichen sie eine beträchtlichere Grösse als jene, bald treten sie als kleine Körnchen auf und sind dann offenbar auf einen Zerfall der grossen Brocken zurückzuführen. Auch das Plasma zeigt in ihrer Umgebung ein dem Primärfalle entsprechendes Verhalten. Wie dort bildet es um die Chromatinbrocken unregelmässige verzweigte Stränge von dichter, annähernd homogener Struktur, die sich um so deutlicher von dem Cystenplasma der Umgebung abheben, als sich die für diesen Fall so charakteristische dichte Einlagerung von intensiv nach Heidenhain färbbaren Kügelchen lediglich auf das Cystenplasma beschränkt. Im ganzen entsteht ein Bild, als seien in das Cystenplasma grosse unregelmässig verzweigte Zellen eingelagert mit vielen unregelmässigen kompakten Kernen, die manchmal an chromatolytische Figuren erinnern.

Die in Fig. 36, Taf. VI, abgebildeten anastomosierenden Stränge erreichen zusammen eine Länge von 38 μ bei einer Breitendimension von etwa 9 μ. Die Grösse des Chromatinkörpers e in ihnen, die als Durchschnittsmass für die grösseren Brocken dienen kann, wurde auf 2,4 × 1,6 μ bestimmt. Die Chromatinbrocken in den Plasmasträngen finden sich hauptsächlich im Bereiche der Rindenschicht, aber auch noch in der zentralen Cystenpartie in den Plasmasepten der Vakuolen. Im Primärfalle waren sie vorwiegend im Innern der Cyste zu finden. Ihre Lageveränderung dürfte sich durch die immer mehr zunehmende Entwicklung von Flüssigkeitsvakuolen in den mittleren Teilen und durch Wachstumsvorgänge erklären.

In der kleineren unter den beiden älteren Cysten, die, wie S. 122 ausgeführt, das Stadium repräsentieren, auf dem bereits

die Primärschlauchbildung durch die Entwicklung von Primärzellen abgelöst wird, sind die unregelmässigen verzweigten Plasmagebilde zum Teil noch grösser. Sie erreichen beispielsweise im Schnitt Dimensionen von 46 × 9,5 μ und schliessen dann zahlreiche Chromatinklumpen ein, zum Teil sind sie jedoch auch kleiner als in den jüngeren Fällen und erreichen z. B. lediglich eine Ausdehnung von 6 × 5 μ. Offenbar sind die kleineren Formen durch Aufteilung der grossen Stränge entstanden. Dafür spricht einmal der Umstand, dass sie meist nur ein bis zwei Chromatinklumpen einschliessen, ferner lassen sich in den Schnitten ab und zu Bilder auffinden, wie das in Fig. 37, Taf. VI, abgebildete Präparat, die direkt auf eine Abschnürung einkerniger Stücke von vielkernigen Ketten hindeuten. Im allgemeinen ist eine erhebliche Vergrösserung der meisten Chromatinbrocken zu konstatieren. Im Schnitt erreichen sie jetzt häufig die doppelte Flächenausdehnung wie in dem jüngeren Falle und bisweilen, wenn sie einzeln in den kleineren Plasmastücken liegen, sogar die vierfache Flächendimension. Das die Chromatinklumpen umgebende Plasma ist nicht mehr ganz so dicht gefügt wie bisher und von fein granulierter Beschaffenheit. Gegen das Cystenplasma besteht nunmehr durch Ausbildung einer feinen Membran eine deutliche Abgrenzung.

Da auf diesem Stadium sich bereits die Plasmahöfe sämtlicher Primärkerne aufs deutlichste gegen das Cystenplasma abgekapselt haben — ein Vorgang, der zur Entstehung der selbständigen Primärzellen führt — so werden die Primärkerne kaum noch als die funktionierenden Kerne des Cystenplasmas angesehen werden dürfen. Aller Wahrscheinlichkeit nach müssen vielmehr jetzt in den immer grösser werdenden Chromatinklumpen, um die das Plasma ein besonderes Verhalten zeigt, die Kerne des gesamten Organismus erblickt werden. Die feine Membran, die die Plasmahöfe der Chromatinbrocken nunmehr gegen das Cystenplasma abgrenzt, wird sich physiologisch wie eine Kernmembran verhalten müssen. Ja, man würde zweifellos geneigt sein, die durch die Membran abgegrenzten Gebilde auch morphologisch als Kerne aufzufassen, die dann durch besonders grosse Kernkörper ausgezeichnet wären, wenn nicht der die Chromatinklumpen umgebende Hof sich in seiner Struktur und seinem färberischen Verhalten ganz wie Plasma ausnehmen würde.

Mit zunehmender Grösse der Cysten ändert sich jedoch dieses Verhalten bald mehr und mehr. In einer bereits 2 mm erreichenden anomala-Cyste (cf. S. 122) sind ausschliesslich ein oder zwei Chromatinklumpen einschliessende Stücke vorhanden, von denen angenommen werden kann, dass sie durch Aufteilung der grossen Plasmastränge entstanden sind. Während nun ihre äussere Membran scharf ausgeprägt erscheint, nimmt die sich wie Plasma färbende Substanz in ihnen immer mehr ein lockeres Gefüge an und stellt schliesslich ein zartes Maschenwerk dar, das eine helle Saftzone durchzieht. In der Mitte ist in dem Netzwerk der Chromatinklumpen suspendiert, der noch mehr an Masse zugenommen hat (Fig. 38, Taf. VI).[1] Es entsteht damit ein Bild, das im Prinzip mit dem Kerntypus vieler niederer Protozoen verglichen werden kann. Bei zahlreichen Amoeben z. B. wird bekanntlich der Kern durch einen chromatischen Innenkörper (Karyosom) repräsentiert, der von einer hellen Saftzone umschlossen wird. Diese kann von einem Netzwerk von Lininfäden durchzogen und gegen das Plasma durch eine Membran abgegrenzt werden.

Das geschilderte Stadium bleibt jedoch offenbar nur kurze Zeit bestehen. Bald nachdem das dichte plasmatische Gefüge zu einem zarten Netzwerk aufgelockert ist, beginnt aus dem grossen Innenkörper chromatische Substanz auszutreten, die sich in Gestalt feiner Chromatinkörnchen bald auf den Fäden des Netzwerkes und an der Innenfläche der Membran niederschlägt. Die beginnende Auflockerung des Innenkörpers ist bereits in Fig. 38 zu erkennen, den Austritt chromatischer Substanz demonstrieren die Fig. 39 und 40 auf Taf. VI. Der Innenkörper bleibt in etwas verringerter Grösse in einem oder mehreren Stücken erhalten. So entsteht schliesslich das Bild grosser bläschenförmiger Kerne, die von einem Chromatinnetz durchzogen sind und grosse Nukleolen einschliessen (Fig. 41). Es sind dies die Kerne, die als die „vegetativen Kerne“ von Glugea bereits eine so grosse Rolle in der Literatur gespielt haben.

Die eigentümliche Art ihrer Ausbildung entspricht einer Entwicklungsreihe, wie sie sich in den niederen Protozoengruppen

[1]) Die im Schnitt messbare Flächenausdehnung beträgt jetzt in der Regel das Vier- bisweilen sogar das Zehnfache der Flächendimension, die an den Chromatinbrocken der jungen Cyste (Fig. 36, Taf. VI) festgestellt worden war.

bei einem Vergleich der einfacheren mit den differenzierteren Formen aufstellen lässt. So schliessen sich an die einfach gebauten Amoeben, die den oben geschilderten einfachen Karyosomkern besitzen, höhere Formen (z. B. Amoeba proteus Ehrbg.) an, bei denen in der Kernsaftzone rings um den Binnenkörper „Aussenchromatin“ aufgetreten ist.

Dass bei der Entwicklung der vegetativen Kerne nach diesen Befunden die achromatischen Bestandteile des Kernes, insbesondere die wegen ihres festeren Gefüges am leichtesten identifizierbare achromatische Kernmembran vom Protoplasma gebildet werden, ist ein Umstand, der sich mit der Vorstellung vom Aufbau der Protozoenkerne durchaus vereinigen lässt. So kommt Awerinzew (1910) in Zusammenfassung seiner langjährigen Untersuchungen über den Kernapparat der Protozoen zu dem Resultat, dass die Kernmembran, wo überhaupt eine solche Hülle vorhanden ist, durchaus nicht einen Grundbestandteil des Kernes bildet, sondern eine besondere verdichtete Schicht des Protoplasmas darstellt. Es sei hier ferner daran erinnert, dass auch die verschiedenen Entstehungsarten der Kernspindeln bei der Teilung von Metazoenkernen, die bald (Pterotrachea, Phyllirhoë) mit Sicherheit von dem achromatischen Kerngerüst abgeleitet werden können, bald zweifellos im Protoplasma ihren Ursprung nehmen, offensichtlich dokumentieren, dass das Linin des Kernes und manche Substanzen des Protoplasmas sich in ihren Eigenschaften sehr ähnlich, wenn nicht identisch sind (cf. Oscar Hertwig: Allgemeine Biologie, Kap. 8, IVe).

Ergänzend wäre noch hinzuzufügen, dass nicht alle Bilder auf eine Umwandlung des Plasmahofes um die Chromatinklumpen in das Lininnetz des Kernes hinweisen. In manchen Fällen scheint vielmehr ein völliger Schwund des Plasmahofes stattzufinden, sei es durch Auflösung desselben in einer Saftzone, die rings um die Chromatinklumpen entsteht, sei es durch ein Verlorengehen der Abgrenzung gegen das Cystenplasma. Im ersteren Falle würde die Ausbildung eines typischen vegetativen Kernes dann nur so vor sich gehen können, dass nicht nur die Chromatinkörnchen, sondern auch die Lininfäden aus dem Innenkörper entstehen würden. Im zweiten Falle kommt der Innenkörper fast direkt in das Cystenplasma zu liegen und wird von ihm nur durch eine schmale Saftzone getrennt. Ob auch hier noch eine

Weiterentwicklung in dem Sinne stattfinden könnte, dass die Saftzone sich vergrössert, eine neue Membranabgrenzung gegen das Plasma erfolgt und darauf ein Lininnetz mit Chromatinkörnchen aus dem Innenkörper entsteht, oder ob es sich hier nicht vielmehr um degenerierende Elemente handelt, muss ich dahingestellt lassen.

Das in Fig. 41, Taf. VI, dargestellte Bild der vegetativen Kerne findet sich in gleicher Weise auch in noch grösseren Cysten. Es kann hier auf die in Fig. 4, Taf. IV, dargestellten Kerne aus einer 3 mm grossen Cyste verwiesen werden, die bereits S. 93 genauer beschrieben wurden. Charakteristisch für die Art anomala ist das weitmaschige Lininnetz, auf dem die Chromatinkörnchen abgelagert sind und die bedeutende Grösse der Innenkörper, die in der Einzahl oder zu mehreren vorkommen.

Im ganzen erinnern die anomala-Kerne auf diesem Stadium zweifellos sehr an bläschenförmige Metazoenkerne, die grosse Nukleolen einschliessen. Die Innenkörper verhalten sich jetzt auch färberisch ganz wie echte Nukleolen. Nach Biondi färben sie sich rot, während die kleinen nach Heidenhain tiefschwarz tingierten Körnchen, die in Reihen die Kernsaftzone durchsetzen und sich hauptsächlich der Kernmembran auflagern, durch intensive Methylgrünfärbung sich als echtes Chromatin dokumentieren. Mit zunehmendem Wachstum der Cysten vermehrt sich auch die Zahl der vegetativen Kerne, wie es scheint durch unregelmässige Durchschnürung zunächst der Innenkörper und dann der ganzen Kerne. In alten anomala-Cysten, die ihr Wachstum eingestellt haben, gehen sie, wie schon Stempell hervorhob, zugrunde.

Die komplizierte Stadienreihe, die die vegetativen Kerne durchlaufen, findet eine Erklärung durch die Annahme, dass zunächst die Primärkerne die funktionierenden Kerne des Plasmakörpers darstellen und dass dieselben erst allmählich durch die „vegetativen Kerne“ in ihrer Funktion abgelöst werden. Die grossen Plasmastränge mit den zahlreichen Chromatinbrocken junger Cysten können unter diesem Gesichtspunkte als die Anlagen einer grossen Zahl erst später in Funktion tretender vegetativer Kerne aufgefasst werden. Die Ausbildung eines funktionsfähigen Zustandes der vegetativen Kerne beginnt dann mit der Aufteilung der grossen Plasmastränge in einzelne Territorien und der Abgrenzung der letzteren gegen das Cystenplasma durch eine

Membran. Diese Entwicklungsprozesse treten auf demselben Cystenstadium ein, auf dem die Primärzellen sich als selbständige Elemente gegen das Cystenplasma absetzen und in grosser Zahl die zur Sporenbildung führenden Umformungen erfahren. Von diesem Zeitpunkte ab können ihre Kerne, die Primärkerne, nicht mehr die funktionierenden Kerne des Plasmakörpers darstellen, und an ihre Stelle treten nun die sich entwickelnden vegetativen Kerne. Die weiteren Umformungsprozesse derselben, die zur Ausbildung des bläschenförmigen Typus führen, vollziehen sich offenbar sehr schnell und sind in ein und derselben Cyste nebeneinander anzutreffen. Es dürfte sich hier um funktionelle Umformungen handeln. Mit dem Übergang in die bläschenförmigen von Chromatinsträngen durchsetzten Kerne haben die vegetativen Kerne dann die ihrer vollen Funktion entsprechende Ausbildungsstufe erreicht und sie behalten sie bei, solange sich überhaupt ein vegetatives Leben in den Cysten abspielt.

Die vegetativen Kerne von Glugea hertwigi unterscheiden sich von den anomala-Kernen, wie bereits S. 93 hervorgehoben wurde, deutlich durch ihr viel dichteres Chromatinnetz und durch die wohl im Zusammenhang damit im allgemeinen bedeutend kleineren Nukleolen. In jungen Cysten vermehren sie sich, wie Fig. 5, Taf. IV, demonstriert, lebhaft durch amitotische Durchschnürung. Die Tochterkerne bleiben dabei öfters noch durch Verbindungsstränge zu rosenkranzartigen Ketten vereinigt. Ein so junges Material, dass an ihm die Entwicklungsgeschichte der vegetativen Kerne wie bei Glugea anomala hätte studiert werden können, habe ich mir bisher von Glugea hertwigi nicht beschaffen können. Immerhin kann dafür, dass die Entwicklungsvorgänge wohl im Prinzip ähnlich verlaufen werden, der Umstand angeführt werden, dass bisweilen auch hertwigi-Kerne mit so grossem Innenkörper wie bei anomala angetroffen werden.

Neben den grossen Kernen mit netzförmiger Struktur finden sich allerdings auch ab und zu in den mit Formalin konservierten relativ jungen hertwigi-Cysten, auf die sich die Fig. 1, 2 und 5 auf Taf. IV beziehen, einige bedeutend kleinere Kerne von etwa 3 μ Grösse und mehr kompaktem Bau (Fig. 5d). Sie sind besonders durch eine dicke, intensiv mit Kernfarbstoffen tingierbare Schale ausgezeichnet. Ähnliche Befunde in Cysten aus Gobius minutus deutete Stempell in dem Sinne, dass die mehr kompakten Kerne die Vor-

stufe der grösseren Kerne mit netzförmiger Struktur seien und sich gewissermassen durch Aufblähung in sie umwandeln. Flemmingpräparate entsprechender Cystenstadien, die das Verhalten des Plasmas in der Umgebung der kleinen Kerne zu studieren gestatten würden, habe ich bisher nicht untersuchen können. Angesichts der an Glugea anomala beobachteten vollständigen Entwicklungsreihe der vegetativen Kerne ist es mir jedoch wahrscheinlich, dass die kleinen Kerne mit kompakter Schale nicht jüngere Stadien, sondern verkümmerte Formen der netzförmigen Kerne von Glugea hertwigi sind. Dafür spricht auch der Umstand, dass sich in ganz grossen anomala-Cysten gelegentlich neben den typischen grossen bläschenförmigen Kernen auch viel kleinere Bläschen finden, die von einer sehr dicken, kompakten, mit Kernfarbstoffen tingierbaren Schale umschlossen werden (Fig. 4, Taf. IV d). Hier kann es keinem Zweifel unterliegen, dass es sich nicht um normale Entwicklungsstadien von Formen handelt, sondern, falls diese Gebilde mit den Kernen überhaupt etwas zu tun haben, um degenerierende Formen.

Überblickt man den gesamten Entwicklungsgang der vegetativen Kerne, wie er sich an den jungen Cysten von Glugea anomala darstellt, so scheinen mir zwei Punkte besonderer Beachtung wert. Die grosse Ähnlichkeit mit der Struktur bläschenförmiger Metazoenkerne erreichen die vegetativen Kerne erst auf der höchsten Stufe ihrer Ausbildung. Je weiter sie in der Entwicklung zurückverfolgt werden, um so unähnlicher werden sie einem Metazoenkern. Würden sie wirklich der Ansicht von Schröder und Schuberg entsprechend Wirtskerne darstellen, die unter dem Einfluss der Parasiten gewuchert sind, so müsste man gerade das umgekehrte Verhalten erwarten.

Das zweite Moment, das ich nochmals besonders betonen möchte, ist der Umstand, dass sich auf keinem Entwicklungsstadium entgegen der Lehre von Stempell, Awerinzew und Fermor ein Übergang zu den Zellen der Sporogonie feststellen liess. Nur dafür liessen sich Anhaltspunkte gewinnen, dass die beiden Entwicklungsreihen, die einerseits zu den Sporen, andererseits zu den vegetativen Kernen führen, eine gemeinsame Wurzel in den Primärkernen der jüngsten Cystenstadien besitzen. Eine Umwandlung vegetativer Kerne in Sporenbildungszellen in älteren Cysten, wie sie Stempell und die russischen Autoren beobachtet

zu haben glauben, muss ich nach meinen Befunden für ganz ausgeschlossen halten.

Präparate von hertwigi-Cysten, die nach Zenker konserviert wurden, scheinen einen Hinweis darauf zu bieten, wie leicht eine irrige Meinung in dieser Beziehung entstehen kann. Die Zenkersche Flüssigkeit hat hier das Wirtsgewebe, das Cystenplasma und die grossen netzförmigen Kerne ausgezeichnet, die Sporen leidlich konserviert, dagegen die unbeschalten Formen der Sporogonie sehr schlecht. Insbesondere ist in den Primärzellen und den aus ihnen unter Kernvermehrung hervorgehenden Schläuchen und Kugeln das Plasma kaum fixiert. Die Kerne dieser Stadien liegen somit in hellen Vakuolen, die vom Cystenplasma umgeben werden, und die Ähnlichkeit mit bläschenförmigen vegetativen Kernen vom anomala-Typus wird noch dadurch gesteigert, dass sich der Rand der Vakuolen, an dem sich vielleicht geschrumpfte Reste des Plasmas erhalten haben, stellenweise nach Heidenhain intensiv dunkel färbt. In Cysten von anomala würden diese Gebilde tatsächlich von kleinen vegetativen Kernen nicht zu unterscheiden sein und ihr allmählicher Übergang zu Stadien, die durch Aufteilung die Vakuolenzellen liefern, würde leicht zur Aufstellung einer Entwicklungsreihe im Sinne von Awerinzew und Fermor führen können. Die ausgesprochen netzförmige Struktur der hertwigi-Kerne macht dagegen im vorliegenden Fall die Unterscheidung der vegetativen Kerne und der aus den Primärzellen durch die Konservierung erzeugten Kunstprodukte ohne weiteres möglich.

Zusammenfassung.

Die vegetativen Kerne lassen sich in letzter Linie auf die unregelmässigen Brocken färbbarer Kernsubstanz zurückführen, die von dem jüngsten Falle (80 μ-Cyste) oben beschrieben wurden. Es handelt sich bei ihnen zweifellos um Protozoenelemente und zwar wahrscheinlich um Umbildungsformen von Primärkernen. Sie liegen meist in grösserer Anzahl in Stränge dichten Plasmas eingeschlossen.

Mit zunehmendem Cystenwachstum nehmen die Chromatinbrocken und die sie umgebenden und verbindenden Plasmastränge an Volumen zu, und zwar wachsen die Chromatinbrocken relativ schneller. Die umfangreichen Plasmastränge zerschnüren sich

dann in kleine Plasmastücke, die nur einen einzigen oder wenige Chromatinbrocken einschliessen. Allmählich nimmt der Plasmahof rings um die sich noch vergrössernden Chromatinklumpen ein weniger dichtes Gefüge an und grenzt sich gegen das Cystenplasma durch eine deutliche Membran ab. Die Struktur des Plasmahofes geht schliesslich in ein zartes Netzwerk über. Gleichzeitig beginnt aus den kompakten Klumpen färbbare Kernsubstanz auszutreten und sich in Gestalt von Chromatinkörnchen auf dem Netzwerk und der Innenseite der Membran abzulagern. Die in der Mitte des Maschenwerkes suspendierten Reste der Klumpen färbbarer Kernsubstanz verhalten sich färberisch nunmehr wie Nukleolen.

Die komplizierte Stadienreihe, die die vegetativen Kerne durchlaufen, findet eine Erklärung durch die Annahme, dass zunächst die Primärkerne die funktionierenden Kerne des Plasmakörpers darstellen und dass dieselben erst allmählich durch die vegetativen Kerne in ihrer Funktion abgelöst werden. Auf den Übergang derselben in den funktionsfähigen Zustand können die letzten eingreifenden Differenzierungsprozesse bezogen werden.

Die Entwicklungsgeschichte der durch ein feineres Netzwerk und kleinere Nukleolen ausgezeichneten vegetativen Kerne von Gl. hertwigi konnte noch nicht untersucht werden. Doch liegen Indizien für einen im Prinzip ähnlichen Entwicklungsgang vor. Weder bei Gl. anomala, noch bei Gl. hertwigi findet ein Übergang vegetativer Kerne in Sporenbildungsstadien statt, wie es Stempell und Awerinzew und Fermor beobachtet zu haben glaubten. Die Ausbildung der vegetativen Kerne und die Sporogonie bilden vielmehr zwei divergierende Entwicklungsreihen, die nur eine gemeinsame Wurzel in den Primärkernen besitzen.

XII. Generalübersicht der Entwicklungsvorgänge in den Cysten.

Die typischen in den Cysten von Gl. anomala beobachteten Entwicklungsvorgänge sind in Textfig. 6 in einem Schema möglichst übersichtlich zusammengestellt. Den Ausgangspunkt der Entwicklung bilden die Primärkerne α auf der linken Seite der Figur. Von denselben leitet sich einerseits die innen dargestellte Entwicklungsreihe der Sporenbildung ab (a—n), andererseits die aussen gezeichnete Reihe, die zur Ausbildung der vegetativen Kerne führt (A—H).

In der als ein innerer Kreis dargestellten Stadienreihe der Sporenbildung sind zwei Phasen zu unterscheiden, von denen die erste (a—e) sich im Plasma der Cyste, die zweite Phase dagegen (f—n) in den im Plasma entstandenen Vakuolen abspielt. In der ersten Phase bildet sich durch allmähliche Plasmaverdichtung (a) um einen der Primärkerne ein Primärschlauch (b) und aus diesem entsteht durch Kernteilung (c, d) und Längsstreckung ein achtkerniger Sekundärschlauch (e). Die zweite Phase der Sporenentwicklung wird dadurch eingeleitet, dass um den achtkernigen Sekundärschlauch eine Vakuole entsteht, in der er in acht Teilstücke zu zerfallen beginnt (f). Auf diese Weise entstehen dann aus dem achtkernigen Schlauch acht Vakuolenzellen (g), die in eine Vakuole eingeschlossen liegen. Sie beginnen darauf synchron in Teilung einzutreten (h) und nach ihrer Durchschnürung sind in den Vakuolen 16 kugelige Sporoblasten anzutreffen (i). Die Sporoblasten strecken sich dann in die Länge, wobei der Kern

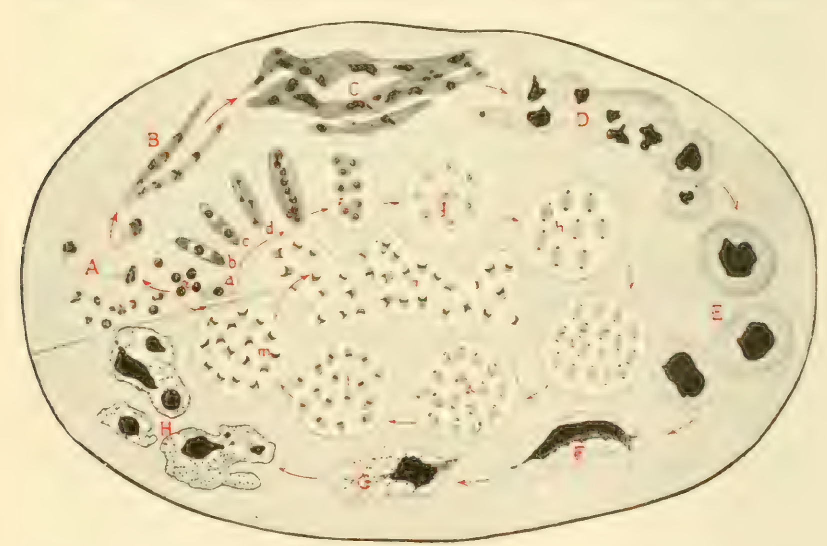


Fig. 6.

Schema der Entwicklungsvorgänge in den Cysten von Glugea anomala. a—n Entwicklungsreihe der Sporogonie, A—H Entwicklungsreihe der vegetativen Kerne, α die Primärkerne als gemeinsame Wurzel beider Reihen.

zunächst eine exzentrische Lage bewahrt und an dem entgegengesetzten Pol eine Verdichtuug auftritt, die wohl zur Anlage des Polfadens in Beziehung steht (k). Der Kern in den 16 Sporoblasten

nimmt darauf eine mehr zentrale Lage ein. Es beginnt die grosse Sporenvakuole am stumpfen Pol hervorzutreten (l). In der letzten der im Schema gezeichneten Cystenvakuolen (m) sind schliesslich aus den 16 Sporoblasten 16 Sporen entstanden, deren Kern eine gürtelartige Anordnung an der Grenze von grosser Vakuole und Plasma aufweist. Durch Zusammenfliessen mehrerer Vakuolen entsteht im Innern der Cyste ein zentraler Hohlraum (n), in dem sich zahlreiche Sporen ansammeln.

Mit der soeben verfolgten Sporenbildungsreihe steht die aussen gezeichnete Entwicklungsreihe der vegetativen Kerne nur an ihrer Wurzel in Zusammenhang. Auch sie beginnen links im Schema mit den Primärkernen α. Es ist dies die einzige Stelle, an der der innen gezeichnete Kreis der Sporogonie und die aussen dargestellte Reihe der vegetativen Kerne miteinander in Zusammenhang stehen.

Bei der Entwicklung zu vegetativen Kernen gehen die Primärkerne (α) zunächst in unregelmässige Chromatinbrocken über (A). Um diese beginnt sich das Plasma zu verdichten und lange Stränge zu bilden, die mehrere Chromatinbrocken einschliessen (B). Plasmastränge und Chromatinbrocken nehmen darauf an Grösse zu und zwar wachsen die Chromatinbrocken relativ schneller (C). Bei der weiteren Cystenentwicklung nimmt das Plasma in den Strängen ein weniger dichtes Gefüge an und grenzt sich gegen das Cystenplasma durch eine feine Membran ab. Die Chromatinbrocken haben noch mehr an Grösse zugenommen und es beginnt nun eine Aufteilung der Plasmastränge in einzelne Stücke einzutreten, die meist nur einen Chromatinbrocken einschliessen (D). Der Plasmahof der isolierten Chromatinbrocken, die sich noch weiter vergrössern, nimmt dann immer mehr ein lockeres Gefüge an (E) und wandelt sich in ein zartes Maschenwerk um, in dem der Chromatinbrocken als grosser Innenkörper suspendiert ist. Die Struktur desselben beginnt sich dabei aufzulockern (F). Auf dem nächsten Stadium (G) tritt aus dem Innenkörper chromatische Substanz aus und beginnt sich in Form feiner Chromatinkörnchen auf dem Maschenwerk abzulagern. Auch auf der Innenfläche der Membran schlägt sich das Chromatin nieder und so entsteht schliesslich (H) die volle Ausbildungsstufe der vegetativen Kerne. Sie stellen nunmehr grosse bläschenförmige Kerne dar, die von einem Chromatinnetz durchzogen werden und einen oder mehrere Innenkörper (Nukleolen) einschliessen.

XIII. Kritik der älteren Befunde an Glugea anomala.

Im Laufe der Darstellung hat sich bereits einige Male Gelegenheit geboten, auf die Abweichungen der hier erhobenen Befunde von den Beobachtungen anderer Autoren einzugehen. Es war dies namentlich der Fall bezüglich der Frage der Kernverhältnisse in den Sporen, ferner bezüglich der sekundären Plasmakörper Stempells, die von mir als Phagozyten aufgefasst werden (S. 94) und schliesslich vor allem bezüglich der von Stempell, Awerinzew und Fermor behaupteten Entstehung von Sporenbildungszellen aus vegatativen Kernen, die nach meinen Befunden nicht statthaft. Da diese Fragen bereits ausführlich besprochen wurden, erübrigt es sich, die abweichenden Darstellungen der älteren Autoren, soweit sie sich auf diese speziellen Punkte beziehen, hier noch einmal kritisch zu beleuchten. Dagegen wird es nicht überflüssig erscheinen, kurz zu prüfen, wie sich im allgemeinen die Befunde der älteren Autoren zu den ermittelten Entwicklungsreihen verhalten.

Was zunächst die Befunde von Thélohan (1895) anbetrifft, so hat er offenbar von den schwierig zu konservierenden Elementen der ersten Phase der Sporogonie lediglich die Primärzellen beobachtet, dieselben jedoch als die Kerne des Plasmakörpers aufgefasst. Dass er die eigentlichen vegetativen Kerne nicht beschrieb, ist nicht so verwunderlich, als Stempell meint, da sie ja in jungem Material wenig auffallen, in reifen Cysten ganz vermisst werden und nur von einer gewissen Entwicklungsstufe der Cysten an zu den sehr auffälligen bläschenförmigen Gebilden werden.

Von der in den Vakuolen vor sich gehenden zweiten Phase der Sporenbildung hat Thélohan offenbar verschiedene Stadien gesehen. Er hat dabei die Vakuolenwand als die durch Flüssigkeitsabscheidung abgehobene Membran einer grossen Sporoblastenzelle (in der heutigen Nomenklatur: Pansporoblast, Sporont) aufgefasst und angenommen, dass die von Membran und Flüssigkeit umschlossene zunächst einkernige Zelle sich successive in kleine Zellen teile, die dann zu Sporen werden. Als Beleg hat Thélohan in Fig. 140 Vakuolen mit 4,6 und 8 kleinen Zellen sowie eine Vakuole, die eine grössere zweikernige Zelle einschliesst, abgebildet. Die kleinen Zellen enthalten zum Teil ruhende Kerne, zum Teil das charakteristische Hantelstadium der Kernteilung. Zweifellos entsprechen sie unter meinen Stadien den durch Zerfall der viel-

kernigen Schläuche in den Vakuolen entstehenden Vakuolenzellen, die sich dann in Sporoblasten teilen. Doch dürfte es sich nur in der letzten Figur Thélohans, die 8 Zellen zeigt, um sämtliche Zellen einer Vakuole handeln. Die übrigen Bilder mit einer geringeren Zahl von Zellen in den Vakuolen sind vielleicht als Anschnitte grösserer Vakuolen zu erklären.

Stempell kam 1904 zur Aufstellung einer ähnlichen Sporenbildungsreihe wie Thélohan. Auch er glaubte grosse einkernige Sporonten gefunden zu haben, die von einem Flüssigkeitsraum (Vakuole) und einer Membran umgeben werden. Durch successive Zweiteilung sollten sie innerhalb der Vakuole in eine Anzahl einkernige direkt zu Sporen werdender Teilstücke zerfallen. Nach Zerreissen der dünnen, die Vakuolen begrenzenden Sporontenmembranen sollten sich die Teilprodukte dann in dem zentralen Cystenhohlraum ansammeln.

Stempell hat, wie er ausdrücklich bemerkt, nur wenige „einkernige Sporonten“ auffinden können. Sie waren jedoch für ihn von grosser Bedeutung, da sie noch das relativ beste Übergangsglied zu den grossen bläschenförmigen vegetativen Kernen darstellen, von denen er, wie auf S. 86 genauer ausgeführt, die Sporonten ableitete.

Eine sichere Deutung der von Stempell abgebildeten „einkernigen Sporonten“ vermag ich meinerseits nicht zu geben. Das in Fig. 21 seiner Arbeit dargestellte Gebilde sieht noch am ehesten wie ein Entwicklungsstadium eines vegetativen Kernes aus, dessen Chromatin noch in einem Innenkörper konzentriert ist und sich noch nicht auf das in Ausbildung begriffene Lininnetz ausbreitet. Allerdings wäre das Karyosom recht klein und auffallend wenig kompakt.

Figuren, die die Ausbildung zahlreicher Sporoblasten aus dem grossen „einkernigen Sporonten“, die durch successive Zweiteilung erfolgen soll, einwandsfrei demonstrieren, gibt Stempell nicht. Was die diesbezüglichen Abbildungen 15 und 16 Stempells anbetrifft, so handelt es sich hier, wie die unregelmässigen amöboiden Formen beweisen, offenbar um stark geschrumpfte Zellen, die vielleicht ungünstig konservierten Sekundärschläuchen entsprechen oder aber degenerierende Elemente darstellen. Nur unter den weiteren Stadien Stempells lassen sich mit Sicherheit Elemente der zweiten Phase der Sporenbildung erkennen, so in

Fig. 18 von Stempell, die offenbar eine Gruppe miteinander verklebter Vakuolenzellen darstellt. Fig. 19 und 20 Stempells zeigen zweifellos die Teilung einer Vakuolenzelle in zwei Sporoblasten.

Dass Stempell gelegentlich auch die vielkernigen Schläuche beobachtet hat, die nach meinen Befunden einzig und allein den Ausgangspunkt der zweiten in den Vakuolen vor sich gehenden Phase der Sporenentwicklung bilden, geht klar aus den Fig. 115 und 116 Stempells hervor. Stempell selbst deutet sie als vielkernige Sporonten, die sich aus den grossen einkernigen Sporonten durch Kernteilung entwickelt haben, ohne dass derselben eine Zellteilung gefolgt wäre.

Eine Einsicht in die wahre Genese der vielkernigen Schläuche durch Wachstum und Kernteilung der Primärschläuche resp. Primärzellen und damit die Klarstellung der gesamten ersten Phase der Sporenbildung, die sich im Cystenplasma abspielt, war Stempell wohl infolge der ungünstigen Konservierung seines jungen Materiales nicht möglich. Einige Stadien der ersten Phase der Sporenbildung hat er jedoch zweifellos beobachtet, sie indessen von der Idee der Entstehung der Sporonten aus vegetativen Kernen beherrscht sämtlich auf Entwicklungsstadien der vegetativen Kerne bezogen. So bildet Stempell in Fig. 31 aus der Plasmarinde einer jungen Cyste „verschieden grosse vegetative Kerne“ ab. Von den grösseren hebt er hervor, dass sie im Bau und färberischen Verhalten sich ganz wie Zellen ausnähmen, so dass man den Eindruck gewänne, dass sie sich direkt in Sporonten umwandelten. Wie mir scheint, stellen die kleinen Elemente mit hellem Grund Primärzellen, die dunklen schlauchförmigen Anschnitte von Sekundärschläuchen dar.

Awerinzew und Fermor schliesslich haben am genauesten von den bisherigen Autoren die Sekundärschläuche als die Repräsentanten der ersten Phase der Sporenbildung beschrieben. Bezüglich ihrer Genese sind sie jedoch zu wesentlich anderen Resultaten wie wir gekommen, insofern sie sie nicht auf Primärschläuche resp. Primärzellen zurückführen, sondern sie aus Kernen auswachsen lassen (cf. S. 88). Was die zweite sich in den Vakuolen abspielende Phase anbetrifft, so scheint ihnen die schon von Thélohan und Stempell beobachtete Teilung der Vakuolenzellen in zwei Sporoblasten entgangen zu sein.

Von der Entwicklung der vegetativen Kerne ist das erste Stadium: die Primärkerne, wie es scheint, nur von Stempell gesehen und in Fig. 30 seiner Arbeit als kompakte vegetative Kerne abgebildet worden. Für unsere Beschreibung der weiteren Entwicklungsvorgänge: Plasmaverdichtung um die Primärkerne, Übergang derselben in unregelmässige Brocken, Umwandlung des Plasmas zu einem Lininnetz um das Karyosom ergeben sich in der Glugea-Literatur keine Vergleichspunkte, es sei denn, dass die einkernigen grossen Sporonten Stempells dem zuletzt genannten Stadium entsprechen sollten.

Dagegen bildet Stempell in Fig. 24 und 25 seiner Arbeit zwei Präparate ab, die dem auf Taf. VI, Fig. 39 und 40 dargestellten Stadium, in dem eine Auswanderung chromatischer Substanz in den hellen Saftraum des Kernes stattfindet, entsprechen könnten. Von Stempell sind sie als Degenerationsstadien gedeutet worden. Doch hebt er hervor, dass sie in der nächsten Nachbarschaft typischer vegetativer Kerne liegen.

XIV. Schlussbetrachtung.

Wenngleich die oben dargelegten Befunde bezüglich der Entwicklungsprozesse von Glugea anomala in zahlreichen Punkten von den Ergebnissen der Voruntersucher abweichen, so gelange ich doch zu der gleichen Gesamtauffassung wie die älteren Autoren, insbesondere Stempell. Auch nach meinen Befunden kommt Glugea ein grosser eigener Plasmakörper mit zahlreichen vegetativen Kernen zu. Die ganze Cyste gehört zum Protozoon. Wirtszellen oder hypertrophische Wirtskerne sind am Cystenaufbau nicht beteiligt.

Es kann keinem Zweifel unterliegen, dass sich Glugea damit sehr dem Verhalten der Myxosporidien nähert, andererseits erheblich von den meisten übrigen Microsporidien entfernt, so von den nur wenige μ grossen intrazellulär lebenden Formen, die aus den Gattungen Nosema, Thélohania, Myxocystis z. B. beschrieben worden sind.

Die Kluft, die sich damit zweifellos in der Gruppe der Microsporidien zwischen Glugea und den meisten übrigen Vertretern eröffnet, scheint mir indessen nicht ganz unüberbrückbar zu sein. Vielleicht trifft die Annahme das Richtige, dass der Besitz eines grösseren Plasmakörpers mit vegetativen Kernen

das primäre Verhalten ist, dass dasselbe aber bei den meisten Formen durch Anpassung an Zellparasitismus Reduktionen erlitten hat. In diesem Sinne würde man zu einer einheitlichen Auffassung der Microsporidien gelangen können.

Andererseits darf nicht ausser acht gelassen werden, dass erst für wenige Formen eine eingehende und einwandsfreie Untersuchung des feineren Sporenbaues, insbesondere der Kernverhältnisse in den Sporen vorliegt. Erst wenn diesbezügliche Untersuchungen in weit grösserem Umfange, bei zahlreichen Vertretern durchgeführt sind, wird sich vielleicht endgültig entscheiden lassen, ob das, was wir heute Microsporidien nennen, tatsächlich eine natürliche, innerlich geschlossene Gruppe darstellt.

Literaturverzeichnis.[1]

1. Auerbach, M.: Die Cnidosporidien. Leipzig 1910.
2. Awerinzew, S.: Studien über parasitische Protozoen. IV. Arch. f. Protistenk., Bd. 18, 1910.
3. Awerinzew, S. und Fermor, K.: Studien über parasitische Protozoen. Zur Frage über die Sporenbildung bei Glugea anomala. Arch. f. Protistenk., Bd. 23, 1911.
4. Korotneff, A.: Myxosporidium bryozoides. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 53, 1892.
5. Mercier, L.: Sur le développement et la structure des spores de Thélohania giardi Henneguy. C. R. Ac. Sc., Paris, T. 146, 1908.
6. Mrázek, A.: Über eine neue Sporozoenform aus Limnodrilus. Sitz.-Ber. d. Kgl. Böhm. Ges. d. Wiss., Math.-Naturw. Kl., Prag 1897.
7. Derselbe: Sporozoenstudien II. Glugea lophii Doflein. Sitz.-Ber. d. kgl. Böhm. Ges. d. Wiss., Math.-Naturw. Kl., Prag 1899.
8. Derselbe: Sporozoenstudien. Zur Auffassung der Myxocystiden. Arch. f. Protistenk., Bd. 18, 1910.
9. Pérez, Ch.: Sur une Glugea nouvelle parasite de Balanus amaryllis. C. R. Soc. Biol., Paris, T. 58, 1905.
10. Schröder, O.: Thélohania chaetogastris, eine neue in Chaetogaster diaphanus Gruith schmarotzende Microsporidienart. Arch. f. Protistenk., Bd. 14, 1909.
11. Schuberg, A.: Über Microsporidien aus dem Hoden der Barbe und durch sie verursachte Hypertrophie der Kerne. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt, Berlin, Bd. 33, 1910.

[1] Beim Abschluss der Arbeit (Oktober 1912) konnte die Publikation von Ohmori über Nosema bombycis nicht mehr berücksichtigt werden.

12. Stempell, W.: Über Nosema anomalum. Arch. f. Protistenk., Bd. 4, 1904.

13. Derselbe: Über Nosema bombycis Nägeli. Arch. f. Protistenk., Bd. 16, 1909.

14. Derselbe: Zur Morphologie der Microsporidien. Zool. Anz., Bd. 35, 1910.

15. Thélohan, P.: Recherches sur les Myxosporidies. Bull. Scient. France et Belgique, Paris, T. 26, 1895.

16. Weissenberg, R.: Beiträge zur Kenntnis von Glugea lophii Doflein. I. Über den Sitz und die Verbreitung der Microsporidiencysten am Nervensystem von Lophius piscatorius und budegassa. Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Fr., Berlin 1909.

17. Derselbe: Beiträge zur Kenntnis von Glugea lophii Doflein. II. Über den Bau der Cysten und die Beziehungen zwischen Parasit und Wirtsgewebe. Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Fr., Berlin 1911.

18. Derselbe: Über Microsporidien aus dem Nervensystem von Fischen (Glugea lophii Doflein) und die Hypertrophie der befallenen Ganglienzellen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 78, 1911.

19. Derselbe: Über einige Microsporidien aus Fischen (Nosema lophii Doflein, Glugea anomala Moniez, Glugea hertwigi nov. spec.). Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Fr., Berlin 1911.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel IV–VII.

Sämtliche Figuren wurden mit dem Abbé schen Zeichenapparat entworfen. Die Abbildungen 2, 4 und 5 sind, wie unten genauer angegeben, durch die schematische Eintragung von Sporen und Sporoblasten ergänzt worden. Die stärkste Vergrösserung (2500 : 1) wurde mit Leitz homog. Ölimmersion 1/16, Comp.-Ocul. 12 erzielt. Die Fig. 18 und 21—32 wurden von mir gezeichnet, alle übrigen einschliesslich der Textfig 5 und 6 von Frau E. Schultz-Hencke, der ich für die gewissenhafte und sorgfältige Ausführung auch an dieser Stelle meinen besten Dank sage.

Tafel IV.

Fixation: Formalin (10 %). Färbung: Delafields Hämatoxylin.

Fig. 1. Aus einer Längsschnittserie durch einen reich mit Gl. hertwigi-Cysten infizierten im Juli gefangenen Stint. Kombination von drei Schnitten. Vergr. 10 : 1.

c = junge Cysten; r = reife Cyste; s_1, s_2 = frei im Gewebe verstreute Sporen; b = Bauchwand; l = Leber; m = Magen; h = Hoden.

Fig. 2. Eine Gl. hertwigi-Cyste (aus derselben Serie wie Fig. 1) stärker vergrössert (150 : 1).

b = Bindegewebshülle; p = Plasmarinde; k = vegetative Kerne; v = Vakuolen der Plasmarinde. Bei e ist die Einlagerung von Sporen schematisch durch Pünktchen markiert.

Fig. 3. Querschnitt durch einen jungen 4 cm langen Stichling mit grosser Glugeacyste in der Leibeshöhle. Verg. 15 : 1.

c = Cyste; o = Ovarium; d = Darm; ch = Chorda; r = Rückenmark; m = Muskeln.

Fig. 4. Randpartie der in Fig. 3 im Übersichtsbild abgebildeten Cyste von Glugea anomala bei stärkerer Vergrösserung (570 : 1).

b = Bindegewebshülle; cy = Eigenmembran der Cyste; pr = Plasmarinde der Cyste; k = vegetative Kerne; d = vielleicht als Rest eines degenerierten Kern zu deuten (cf. S. 149); pi = braune Pigmentkörnchen; v = Vakuolen mit Sporenentwicklungsstadien; sp = Sporen. Die Zellen in den Vakuolen sind schematisch zugefügt.

Fig. 5. Aus der Plasmarinde einer hertwigi-Cyste (aus derselben Serie wie Fig. 1). Vergr. 550 : 1.

pr = Cystenplasma; k = vegetative Kerne in Knospung begriffen; a = Kern, dem zwei kleinere Kerne als Knospen aufsitzen; b und c = Verbindungsfäden zwischen Tochterkernen, die nach amitotischer Teilung auseinander gewichen sind; d = vielleicht als Rest eines degenerierten Kernes zu deuten (cf. S. 148); s = Vakuole mit Sporoblasten; sp = Vakuole mit Sporen. Die Zellen in den Vakuolen sind schematisch zugefügt.

Tafel V.

Fixation: Flemmingsche Flüssigkeit. Färbung nach Heidenhain.

Fig. 6—10. Schnitte durch ein Primärstadium einer Glugea anomala-Cyste aus der Membran der Schwanzflosse eines 2 cm langen Stichlings.

Fig. 6. Übersichtsbild der Cyste auf einem seitlichen Schnitte durch dieselbe. Vergr. 1000 : 1.

ep = Epithel der Schwanzflossenmembran; bg = Bindegewebe; c = junge anomala-Cyste (Plasmakörper); k = Primärkerne; ps = zweikerniger Primärschlauch; b_1, b_2, b_3 = verschiedene Stadien der Primärschlauchbildung durch allmähliche Verdichtung des Protoplasmas um Primärkerne; a = Entwicklungsstadium eines einkernigen Primärschlauches; x = Chromatinpartikel von einer Aufhellungszone umgeben.

Fig. 7. Aus demselben Schnitt. Stärkere Vergrösserung der die Chromatinbrocken v und n enthaltenden Zentralpartie (2500 : 1).

Fig. 8. Randschnitt der Cyste. Vergr. 2500 : 1.

bg = Bindegewebshülle; cg = Eigenmembran der Cyste; pr = Plasmakörper der Cyste; k = Primärkerne; ps = zweikernige Primärschläuche; e = einkerniger Primärschlauch; zwischen v und ps (unbezeichnet) ein Entwicklungsstadium eines zweikernigen Schlauches; v = kleine Chromatinbrocken.

Fig. 9. Aus einem mittleren Schnitte durch die Cyste (der Schnitt ist durch Druck etwas lädiert). Vergr. 2500 : 1.

pr = Plasmakörper; z = Primärkeine, um die sich ein homogener Plasmahof markiert; ps = zweikerniger Primärschlauch; b = Entwicklungsstadien zweikerniger Schläuche; a_1 und a_2 = Entwicklungsstadien einkerniger Schläuche; v = Chromatinbrocken, bei w in einen Plasmastrang eingeschlossen.

Fig. 10. Medianschnitt durch die Cyste. Vergr. 2500 : 1.

pr = Plasmakörper; k = Primärkerne; v = Chromatinbrocken; r = Übergangsstadien von Primärkernen zu Chromatinbrocken; e = Chromatinbrocken mit fahnenartiger Plasmaverdichtung; w = anastomosierende Plasmastränge mit zahlreichen Chromatinbrocken.

Tafel VI.

Alle Präparate sind nach Heidenhain gefärbte Schnitte, die Vergrösserung ist für alle Figuren die gleiche: 2500 : 1.

Fig. 25—27 betreffen Gl. hertwigi, die übrigen Abbildungen Gl. anomala und zwar beziehen sich Fig. 11—16 und Fig. 36 auf eine Cyste von fast 0,2 mm Durchmesser, Fig. 19 und 20 auf eine Cyste von 0,25 mm Durchmesser, Fig. 17, 18 und 37 auf eine Cyste von 1 mm Durchmesser und Fig. 21—24 und 38—41 auf eine Cyste von 2 mm Durchmesser.

Die Cysten entstammen verschiedenen jungen Stichlingen von 2—2,5 cm Länge. Fig. 25—27 beziehen sich auf ein mit Alkohol-Eisessig fixiertes Präparat, alle übrigen Abbildungen auf mit Flemmingscher Flüssigkeit konserviertes Material.

Fig. 11. Stück der Plasmarinde einer jungen anomala-Cyste.

c = Granula im Protoplasma; p = in Ausbildung begriffene Primärzellen; ps = einkernige Primärschläuche; u = Entwicklungsstadium eines Primärschlauches; von der Mitte der Figur zieht (unbezeichnet) nach rechts unten ein dunkler Plasmastrang, der 13 Chromatinbrocken einschliesst; sp = Sporoblasten; b = Sporoblasten, die bereits von der Sporenmembran umschlossen werden.

Fig. 12—15. Entwicklungsstadien von Sekundärschläuchen.

Fig. 16. Aufteilung eines Sekundärschlauches in einer Vakuole.

v = Vakuole; t = Teilstücke des Schlauches; pr = Cystenplasma. p = in Ausbildung begriffene Primärzellen.

Fig. 17—20. Entwicklung von vielkernigen Plasmakugeln aus Primärzellen.

Fig. 21. Stück der Plasmarinde einer 2 mm grossen Cyste.

pr = Cystenplasma; s = vielkerniger Schlauch aus einer Primärzelle entstanden, noch allseitig vom Plasma umschlossen; v = entsprechender achtkerniger Schlauch in eine Vakuole aufgenommen; u = Anschnitt eines entsprechenden Schlauches; p = Primärzellen.

Fig. 22. Vakuolenzellen mit Ruhekernen.

Fig. 23. Vakuolenzellen in Teilung.

Fig. 24. Zwei Sporoblasten durch Teilung einer Vakuolenzelle entstanden.

Fig. 25—27. Glugea hertwigi. Fixation Alkohol-Eisessig. (Alkohol absol. 95 Teile, Eisessig 5 Teile.) Färbung nach Heidenhain.

Fig. 25. Sporoblast mit polständigem Kern.

Fig. 26. Sporoblast mit zentralem Kern.

Fig. 27. Sporoblast nach Ausbildung der Sporenschale (Becherstadium).

Fig. 36—41 illustrieren die Entwicklung der vegetativen Kerne von Gl. anomala.

Fig. 36. Plasmastränge w mit Chromatinbrocken e (Anlage vegetativer Kerne). Aus derselben jungen anomala-Cyste wie das in Fig. 11 abgebildete Präparat.

pr = Cystenplasma.

Fig. 37. Abschnürung kleiner Plasmastücke (v) mit nur einem Chromatinbrocken von grösseren Plasmasträngen in der Rinde einer 1 mm im Durchmesser erreichenden Cyste.

m = Grenzmembran gegen das Cystenplasma.

Fig. 38—41 zeigen die Weiterentwicklung der vegetativen Kerne in einer 2 mm grossen anomala-Cyste.

Fig. 38. Beginn der Entwicklung von Chromatinkörnchen (c) aus dem einen grossen Klumpen färbbarer Kernsubstanz darstellenden Innenkörper (n). Auflockerung des Plasmahofes zu einem zarten Netzwerk (l).

m = Grenzmembran gegen das Cystenplasma (pr).

Fig. 39 und 40. Austritt chromatischer Substanz aus dem Innenkörper.

Fig. 41. Volle Ausbildungsstufe der vegetativen Kerne von Glugea anomala.

m = Kernmembran; c = Chromatinkörnchen; n = Innenkörper (Nucleolen); l = Lininnetz.

Tafel VII.

Sämtliche Abbildungen stellen Sporen und Sporoblasten von Glugea hertwigi bei einer Vergrösserung von 2500:1 dar.

Fig. 28. Zwei Sporen frisch (lebend) in Wasser untersucht.

Fig. 29. Spore durch Zusatz einiger Tropfen Flemmingscher Flüssigkeit zum Wasser abgetötet.

Fig. 30—35 beziehen sich auf Schnittpräparate und zwar Fig. 34 und 35 auf mit 10% Formalin konserviertes Material, Fig. 30—33 auf eine mit Alkohol-Eisessig konservierte Cyste, zu der auch die in Fig. 25—27, Taf. VI abgebildeten Sporoblasten gehören, Fig. 30—32 Färbung nach Biondi.

Fig. 30. Fünf Sporen (s), zwei Sporoblasten auf dem Becherstadium (b).

Fig. 31. Sporoblast auf dem Becherstadium.

Fig. 32. Spore, bei der der Kontur der abgehobenen Membran nicht sichtbar ist.

Fig. 33. Vier Sporen (drei in Längsansicht, eine in polarer Ansicht) nach Giemsa gefärbt (Vorschrift von Schuberg 1910).

g = metachromatische Granulationen.

Fig. 34 und 35 beziehen sich auf zwei Cysten, die zwei verschiedenen Stinten entnommen sind. Fixation: 10 % Formalin. Färbung mit Delafields Hämatoxylin.

Fig. 34. Vier Sporen, die ungewöhnlich wenig geschrumpft sind, in Längsansicht.

k = Kern; v = Verdichtung im Plasma am Rande der kleinen Vakuole.

Fig. 35. Vier Sporen in Längsansicht mit metachromatischen Granulationen (g) in den grossen Vakuolen.

r = Spore im optischen Querschnitt; k = Kern.

Die Fußsohle des Menschen.

Eine Studie über die unmittelbare und die erbliche Wirkung der Funktion.

Von

Richard Semon.

Hierzu Tafel VIII—X und 10 Textfiguren.

Inhalt.

Einleitung.

Im Jahre 1754 schrieb Bernhard Siegfried Albin im ersten Buch seiner Academicarum annotationum S. 27: „Exuvias variis embryonibus de manibus pedibusque detraxi: detraxi etiam parvulis, qui assecuti nondum erant longitudinem digitalem. Pertenues inveni, totasque translucidas, qua parte ad dorsum manus pedisve pertinent: crassiores autem, magisque opacas, atque albicantiores, totasque firmiores, qua ad volam, quaque ad plantam, et ad partes internas digitorum. Ex quo intelligitur, natura differre cuticulam iis in locis, et non pressione tantummodo continua et attritione solidari per aetatem, et in crassitudinem crescere.“ Sieben Jahre später (1761) verteidigte Albin die Priorität dieser seiner interessanten Entdeckung gegen Albrecht von Haller, der sie Kaauw zugeschrieben hatte, und Haller (1763, S. 15) gestand ihm dieselbe daraufhin denn auch zu, freilich in einer etwas versteckten und nicht gerade loyalen Form.

Die Albinsche Entdeckung findet man in der älteren anatomischen Literatur nicht selten zitiert, doch verliert sich allmählich das Interesse an derselben, obwohl Darwin in seiner

„Abstammung des Menschen“ (1. Bd., S. 42 d. d. Übersetzung von 1875) der Tatsache, für die er Paget als Gewährsmann anführt, mit den Worten Erwähnung tut: „Bei Kindern ist schon lange vor der Geburt die Haut an den Fußsohlen dicker als an irgend einem anderen Teile des Körpers, und es lässt sich kaum zweifeln, dass dies eine Folge der vererbten Wirkungen des eine lange Reihe von Generationen hindurch stattgefundenen Drucks ist.“

Die ganze Frage hat dann später kaum noch von seiten der Anatomen und Embryologen Beachtung gefunden und wird in den meisten neueren Hand- und Lehrbüchern überhaupt nicht mehr erwähnt. Neuerdings ist aber Shattock (1911) in einer von uns noch öfter heranzuziehenden Arbeit auf sie zurückgekommen, indem er sich dazu folgendermassen äussert: „It is sometimes supposed, that the epidermis of the palm is thicker at the time of birth than that, say, on the dorsum of the hand. This is true only with reservation. The essential feature of the palmar and plantar areas is their papillary complexity, and associated with this, their increased tactile sensibility. The increase in thickness of the epidermis is due to the filling in and levelling of their interpapillary spaces; on the summits of the papillae the epidermis is not thicker than it is on the dorsum of the hand. This is illustrated in the accompanying microphotographs, which show vertical sections of the palm and of the dorsum of the hand from a foetal Macacus at full term . . . A proper thickening may afterwards result in correspondence with the degree of use to which the structure is put.“ Wie man sieht, gründet sich diese von Albin und Darwin so abweichende Auffassung auf die Untersuchung eines einzelnen herausgegriffenen Stadiums. Der Beschaffenheit der Hornschicht, auf die es doch bei einer Schwielenbildung in erster Linie ankommt, wird überhaupt keine Erwähnung getan und auf den beiden, bei ganz schwacher Vergrösserung aufgenommenen Mikrophotographien Shattocks ist keine Spur einer Hornschicht zu erkennen.

Eine genauere Untersuchung des Gegenstandes ist also ein entschiedenes Bedürfnis. Ich hatte schon vor mehreren Jahren mit einer solchen begonnen, wurde aber immer durch andere Arbeiten unterbrochen und veröffentliche auch jetzt aus dem ansehnlichen von mir allmählich zusammengebrachten Material nur diejenigen Befunde, die mir in direkter Beziehung zu der Frage

nach der Vererbung von Schwielenbildungen zu stehen scheinen. Mein embryologisches Material verdanke ich teils meinem verstorbenen Freunde Dr. Alexander Böhm, zum grösseren Teil aber Herrn Dr. F. Pinkus. Kurz vor Abschluss der Arbeit erhielt ich dann noch durch die Güte von Herrn Prof. Robert Meyer eine Serie von Embryonen aus der 12.—16. Woche, und die Untersuchung dieses vorzüglich konservierten Materials ergab für die erste Entstehung der Epidermisleisten der Sohle einen neuen Befund, den ich für wichtig halte. Das Material von Säuglingen und Kindern erhielt ich vornehmlich durch die Herren Dr. Erich Aschenheim und Prof. O. Lubarsch, einiges auch durch die Herren Dr. E. Benjamin und Prof. R. Rössle; Material von Erwachsenen durch Herrn Prof. Lubarsch. Der Liberalität von Herrn Prof. C. Benda endlich verdanke ich die Möglichkeit, ein sehr schönes Präparat von hochgradigem Klumpfuss mit prachtvoller Schwielenbildung auf dem Fussrücken auf das gründlichste untersuchen zu können, ohne dabei Rücksicht auf das Aussehen des Präparats als Schauobjekt nehmen zu brauchen, was meine Arbeit in entscheidender Weise gefördert hat. Allen den genannten Herren sage ich an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank.

Ich habe mich auf die Untersuchung der Entwicklung der Sohlenhaut des Fusses im Vergleich zur Entwicklung der Haut des Fussrückens beschränkt, nachdem ich mich überzeugt hatte, dass ein Vergleich von Handteller und Handrücken zu parallelen Ergebnissen führt und dass seine genauere Durchführung deshalb für das uns beschäftigende Hauptproblem keine neuen Gesichtspunkte liefern würde. Die Analyse der funktionellen Faktoren ist am Fusse einfacher als an der Hand.

Erster Abschnitt.

Die Entwicklung der Haut der Sohle und der Haut des Fussrückens.

Es ist natürlich nicht meine Absicht, hier eine Darstellung der Hautentwicklung der betreffenden Stellen von ihrem ersten Anfang an zu geben. Bekanntlich besteht die Epidermis in den frühesten Stadien aus zwei einschichtigen Lagen, der oberflächlichen Lage des Periderm (Epitrichium), die die Stelle der späteren Hornschicht vertritt, und einer darunter gelegenen, ebenfalls ein-

schichtigen Lage, dem Stratum germinativum. Bei Föten aus der 13.—16. Woche (9,5—11,5 cm craniocaudal) ist am Fussrücken wie in der Planta das Periderm bereits mehrschichtig geworden, an letzterer Stelle in viel ausgiebigerem Maße als an ersterer (vgl. Taf. VIII, Fig. I drs und I pl_2). Bemerkenswerter als dieser Unterschied ist aber auf den betreffenden Stadien das verschiedenartige Verhalten des Stratum germinativum. Während es am Fussrücken dann noch eine vollkommen glatte ebenmässige Schicht bildet (Fig. I drs), zeigt es an der Planta eine sehr regelmässig angeordnete Reihe von leistenförmigen Ausbuchtungen gegen das Corium hin. Durch diese Leistenbildung ist der Rahmen für das spätere Relief der Fußsohle (ebenso der Hohlhand) in einem Sinne vorgezeichnet, auf den wir unten noch näher eingehen werden.

In Fig. I pl_1 auf Taf. VIII gebe ich ein Oberflächenbild dieser primären Leisten (Drüsenleisten) des Fersenepithels in dem frühsten Entwicklungsstadium, das mir von ihnen hier oder an anderen Stellen überhaupt zu Gesicht gekommen ist. Das abgebildete Präparat ist ein flacher Anschnitt der Ferse, nur seine eine Fläche ist eine Schnittfläche, die andere entspricht der freien Oberfläche des Epithels, und die Dicke des Präparats ist derartig, dass die Epithelleisten als Ganzes erhalten und nicht ihrerseits angeschnitten sind. Wie man sieht, liegt auf diesem Präparat bereits fast durchweg eine kontinuierliche Beschaffenheit der Leisten vor. Überall aber nimmt man ein An- und Abschwellen jeder Leiste in ihrem Verlauf wahr, und zwar in Abständen, die den Abständen der erst später durch ihr Tiefenwachstum sich deutlicher abzeichnenden Schweissdrüsenanlagen entsprechen. (Die Durchführung einer genaueren Vergleichung in dieser Beziehung ist deshalb schwierig, weil die Dichtigkeit des Drüsenbesatzes der Leisten topographisch verschieden ist.) Diese Punkte der Leiste sind den dazwischen gelegenen Strecken ein wenig in der Entwicklung voraus, sie weisen auf eine nicht völlig kontinuierliche Entstehung der Leisten hin, und es ist wohl möglich, dass es ein ganz rasch vorübergehendes Stadium gibt, in welchem jede Leiste aus einer Reihe von untereinander nicht verbundenen Epithelanschwellungen besteht. Ein Stadium, von dem ich dies mit voller Sicherheit behaupten könnte, habe ich leider in meinem Material nicht finden können, höchstens Andeutungen davon an

manchen Stellen der Präparate. Die genauere Analyse dieser Andeutungen ist aber sehr schwierig, weil es sich um sehr kleine Unterschiede der Epitheldicke handelt und diese Unterschiede bei der Untersuchung im Oberflächenpräparat (wo ich sie allein wahrgenommen habe) bei schwächeren Vergrösserungen deutlicher hervortreten als bei stärkeren. Bei der Anwendung der letzteren werden sie mehr verwischt. Vielleicht wird es gelingen, über diesen Punkt volle Klarheit zu erlangen, wenn ein glücklicher Zufall einem Untersucher einmal ein um ein ganz Geringes früheres Entwicklungsstadium der Leisten in die Hände spielt, als sie mir im abgebildeten und einigen anderen ganz ähnlichen Präparaten vorgelegen haben.

Immerhin glaube ich, dass schon der mir vorliegende und in Fig. I pl_1 abgebildete Befund zu dem Schluss berechtigt, dass die Drüsenleisten nicht als durchaus einheitliche Bildungen entstehen, sondern als perlschnurähnliche Aufreihungen der Drüsenanlagen, Aufreihungen, von denen es nur noch nicht feststeht, ob sie in der Ontogenese des Menschen von Anfang an verbunden oder in einem ganz kurzen Stadium unverbunden sind. Dass letzteres bei den Drüsenanlagen des Fussrückens für einen längeren Zeitraum der Fall ist, werden wir unten sehen.

In einer sehr interessanten, vorwiegend vergleichend anatomischen Arbeit hat J. Whipple den Nachweis zu führen gesucht und meiner Ansicht nach auch geführt, dass die Drüsenleisten „are formed, phylogenetically at least, by the coalescence of simple structures". Die Verfasserin hat auch versucht, diesen Satz durch ontogenetische Tatsachen zu erhärten, aber der Befund an fortgeschrittenen menschlichen Embryonen, den sie beschreibt und (S. 309) abbildet, ist meiner Meinung nach nicht als beweisend anzusehen. Meiner Erfahrung nach werden solche Oberflächenbilder wie das ihrer Textfigur 27 lediglich durch strukturelle Eigentümlichkeiten der Hornschicht bedingt, worauf wir noch unten bei Besprechung der Hornschicht an der Sohle des Klumpfusses zu sprechen kommen. Die Oberflächenbetrachtung einer solchen Hornschicht an Stellen mit wenig oder ganz fehlendem Relief, die von mir unten in Textfig. G, S. 198 wiedergegeben ist, gibt Bilder, die in hohem Grade an die Whippelschen Textfig. 27 erinnern, ohne dass man natürlich aus ihnen auf die fragliche Verschmelzung Schlüsse ziehen dürfte. Zur ontogenetischen Unter-

suchung dieser Frage muss man sich unbedingt an viel frühere Stadien wenden. Auch das von Schlaginhaufen (1905, Textfig. 56, S. 641) abgebildete und zur Entscheidung der Frage herangezogene Stadium ist viel zu alt, und das Bild ebenso trügerisch wie das von Whipple vorgelegte.

In seiner grundlegenden Arbeit: Beiträge zur Anatomie der Oberhaut hat Blaschko (1887) gegen Kollmann (1883) hervorgehoben, dass die Bildung der Leisten nicht gleichzeitig für die gesamte Tastfläche der Hände und Finger, Füsse und Zehen einsetzt, sondern die Entwicklung beginnt an den Beeren der Finger und Zehen und erfolgt proximalwärts erst etwas später. Diesen Befund kann ich bestätigen, und ein Vergleich des Schnittes Fig. I pl_2 senkrecht durch die Leisten der Ferse mit demjenigen Fig. I pl_3 senkrecht durch die Leisten der Grosszehenbeere desselben Fusses wird dies illustrieren. Bei einem jüngeren Embryo (9,5 cm craniocaudal) fand ich die ersten Andeutungen von Leistenbildungen an den Zehenbeeren, noch nichts dergleichen aber an der Haut der proximalen Zehenglieder und der Sohle. Gross ist aber der Vorsprung, der vielleicht mit der Andauer der starken Entwicklung der distalen Tastballen (der halbkugeligen Ballen über den Endphalangen) in diesen Stadien der Embryonalentwicklung zusammenhängt, nicht, und er wird bald durch entsprechend raschere Entwicklung der etwas später angelegten proximalen Leistensysteme wieder ausgeglichen.

Ich wende mich nun zu etwas älteren Stadien aus dem 5. Monat des Fötallebens. Es standen mir von solchen ein Embryo von 13 cm (etwa 17. Woche) und ein solcher von 15,5 cm Scheitelsteisslänge zur Verfügung. Den Abbildungen der Fig. II ist der kleinere der beiden zugrunde gelegt; die Befunde bei dem grösseren zeigen keine bemerkenswerten Abweichungen.

Das System der Drüsenleisten ist, wie die Oberflächenansicht Fig. II pl_1 zeigt, jetzt zu noch schärferer Ausprägung gelangt. Von diesen Leisten aus sind jetzt die Schweissdrüsenanlagen in die Tiefe gewachsen; sie stehen auf den Leisten ähnlich den Zinken eines Rechens. Zur genaueren Orientierung habe ich Abbildungen von Schnitten senkrecht zur Oberfläche der Haut in zwei Richtungen gegeben: parallel zur Richtung der Leisten und senkrecht zu denselben. Fig. II pl_2 stellt einen Schnitt dar, der eine Leiste fast genau längs getroffen hat. Man sieht auf diesem Schnitt,

wie die Schweissdrüsen von der Leiste in ziemlich regelmässigen Abständen scharf abgesetzt entspringen. Sie dringen zunächst annähernd genau senkrecht in das Corium hinein, beginnen gegen ihr Ende sich aufzuknäueln und schwellen dabei nicht unerheblich an.

Fertigt man Schnitte senkrecht zum Verlauf der Drüsenleisten an, so erhält man das in Fig. II pl_3 wiedergegebene Bild. Auf diesem Schnitt sind neun der Drüsenleisten (dl) teilweise mit den aufsitzenden Schweissdrüsen quer getroffen. Bei genauerer Betrachtung nimmt man aber mitten zwischen je zwei Drüsenleisten noch jedesmal eine minimale Hervorwölbung wahr, die ich mit fl bezeichnet habe. Diese Hervorwölbungen entsprechen einem zweiten, auf diesem Stadium eben in seiner ersten Entstehung begriffenen Leistensystem, das erst in späteren Stadien deutlicher hervortritt und bei der Oberflächenbetrachtung des vorliegenden Stadiums (Fig. II pl_1) nur in ganz schwacher Andeutung wahrgenommen werden kann.

Dieses zweite Leistensystem, das parallel und jedesmal genau zwischen je zwei Drüsenleisten zur Entwicklung gelangt, ist schon im Jahre 1884 von Blaschko entdeckt und 1887 noch ausführlicher geschildert worden. Blaschko bezeichnete die zwischen den Drüsenleisten auftretenden Epithelzüge kurzweg als Falten, wogegen Unna in seiner Besprechung der Blaschkoschen Arbeit (1888) Einspruch erhob, während Krause (1888) und besonders Loewy (1891) mit Entschiedenheit für die Blaschkosche Auffassung eintraten. Die Frage, ob es sich in diesem Falle um eine Faltenbildung, oder, wie Unna betonte, mehr um eine leistenartige Proliferation des Epithels handelt, ist nicht weiter bedeutungsvoll, da beide Prozesse Hand in Hand gehen. Ontogenetisch steht bei der ersten Entstehung die Proliferation wohl im Vordergrund, aber sehr bald gesellt sich zu ihr eine leichte Einfaltung zunächst des unverhornten Epithels in der ganzen Dicke des Streifens, die sich mehr und mehr vertieft und dann zu einer entsprechenden Faltung auch der Hornschicht führt. Auf Grund dieser Einfaltung bildet sich dann das Relief der inneren Oberfläche der Haut aus. Ich bezeichne die mit einer Faltung verbundene leistenartige Epithelproliferation als Faltenleiste (fl), die Einfaltung des unverhornten Epithels und der Hornschicht als Blaschkosche Falte.

Die ausgezeichnete Arbeit Blaschkos, die, wie wir sahen, bei ihrem Erscheinen Aufsehen erregte und zu Diskussionen Anlass gab, ist dann in den folgenden Jahrzehnten wieder zo ziemlich in Vergessenheit geraten, und ihre Resultate haben nur in die wenigsten Lehrbücher Eingang gefunden, so dass die Duplizität des Leistensystems von M. Heidenhain (1906) am Erwachsenen sozusagen von neuem entdeckt und ohne Kenntnis der Blaschkoschen Vorgängerschaft unter Zugrundelegung neuer Bezeichnungen beschrieben worden ist. In der etwas früher erschienenen Arbeit von Schlaginhaufen (1905) wird auf die Untersuchungen Blaschkos in ausreichender Weise Rücksicht genommen, während ihre Ergebnisse in der im Jahre 1907 erschienenen Arbeit von Evatt über die Entwicklung der Papillarlinien wiederum keine Berücksichtigung gefunden haben.

Was die Verhornung des Periderms anlangt, so findet man auf diesem Stadium das Epithel der Sohle von einer dünnen durchsichtigen Schicht bedeckt, die aus zwei bis drei Lagen von schuppenartigen Zellen besteht, deren Kern sich nicht mehr mit den gewöhnlichen Kernfärbungsmitteln zur Darstellung bringen lässt. Ob in dieser Schicht auf diesem Stadium schon echtes Keratin gebildet ist, ist eine Frage, die noch weiterer Untersuchung bedarf. Es bestehen über den Zeitpunkt, wann im Embryonalleben die eigentliche Verhornung einsetzt, Meinungsverschiedenheiten zwischen den Autoren. Ernst (1896) setzt sie unter Zugrundelegung der Gramschen Methode an der Ferse erst an den Anfang des 6. Monats, Cedercreutz (1907), der mit der Ziliacusschen Epitheldifferenzierungsmethode (Pikrinsäure als Reaktivum) gearbeitet hat, setzt sie ganz ausserordentlich viel früher. Doch lässt er die Frage offen, ob es sich nicht bloss um eine Vorstufe der Hornsubstanz handle. Eine sichere Entscheidung wird sich nur durch Anwendung der von Unna[1]) ausgebildeten chemischen Methoden für die Bestimmung und Unterscheidung der verschiedenen Keratine gewinnen lassen. Ich bin dieser Frage nicht weiter nachgegangen, weil ihre Entscheidung nicht leicht und für die von mir verfolgten Ziele nicht von wesentlicher Bedeutung ist. Wenn ich also von Hornschicht spreche, so lasse ich dabei

[1]) Vgl. besonders die ausgezeichnete Zusammenfassung der zahlreichen bahnbrechenden Arbeiten dieses Forschers und seiner Mitarbeiter in seinem klinischen Vortrag über Verhornung (1909).

die Frage ganz unentschieden, ob dieselbe schon echte Keratine enthält oder nicht.

Wir wenden uns nun zum Vergleich der oben dargestellten Verhältnisse mit der Beschaffenheit der Haut des Fussrückens auf demselben Stadium. Während die Haut der Sohlenfläche in ihrer ganzen Ausdehnung wesentlich dieselbe Beschaffenheit darbietet, ist dies bei der Haut des Fussrückens nicht der Fall. Es gibt dort ausgedehnte Bezirke, auf denen man keine einzige Schweissdrüsenanlage findet, dann wieder Stellen, wo die Drüsenanlagen ganz vereinzelt und wieder andere, wo sie ziemlich dicht gedrängt stehen. Wo letzteres der Fall ist, fussen sie aber nicht auf den an der Sohle so scharf ausgeprägten Epithelleisten, sondern treten zunächst isoliert aus dem unverdickten Epithel heraus. Nur am Übergange der Sohlenhaut in die des Fussrückens erstrecken sich die Leisten abgeflacht noch eine kurze Strecke dorsalwärts, verstreichen aber dann sofort und geben der isolierten Aufstellung der Schweissdrüsen Raum.

Nebenbei sei erwähnt, dass in bestimmten Bezirken des Fussrückens sich Haaranlagen finden, die man durch ihre viel voluminösere Entfaltung schon in Flächenpräparaten ohne weiteres von den Drüsenanlagen unterscheiden kann. In ihrer weitaus grössten Ausdehnung ist aber die Haut des Fussrückens bei den von mir untersuchten Objekten haarlos. Auf ein Eingehen auf die speziellere Topographie der Haar- und Drüsenanlagen des Fussrückens muss ich hier verzichten.

Zum Vergleich mit den Verhältnissen der Sohlenhaut auf unserem Stadium wähle ich einen haarlosen Bezirk des Fussrückens, der verhältnismässig dicht gedrängte Schweissdrüsenanlagen besitzt und gebe in Fig. II drs einen Schnitt durch diese Region. Wie man sieht, ist hier die Entwicklung der Teile im Vergleich zu der entsprechenden der Fußsohle in jeder Beziehung stark im Rückstande. Die Oberfläche des Epithels ist nahezu eben; ebenso verhält sich, abgesehen von den Ansatzstellen der isolierten Schweissdrüsen, seine Unterfläche. Von Epithelleisten ist noch nichts wahrzunehmen. Die Längenentwicklung der Schweissdrüsen ist hier noch eine sehr viel geringere als auf der Sohlenfläche. Dem entspricht eine weit geringere Dicke des Corium, Verhältnisse, die man ohne weiteres aus dem Vergleich der Fig. II pl_3 mit II drs ersehen kann. Eine Hornschicht von minimaler Dicke hat sich übrigens auch hier bereits gebildet.

Ich wende mich nun zur Beschreibung eines weit älteren Stadiums, nämlich eines Embryo von etwa 30 Wochen (26 cm Scheitelsteisslänge). Dies ist ein Stadium, in welchem der Fötus gerade imstande ist, als Frühgeburt extrauterin fortzuleben, wenn auch die Aussicht, ihn grosszuziehen, nur eine geringe ist. An Zwischenstadien zwischen diesem und dem oben geschilderten von 13 cm Scheitelsteisslänge lagen mir vor ein Embryo von 15,5 cm Scheitelsteisslänge (etwa 19. Woche) und ein anderer von 20 cm Scheitelsteisslänge (etwa 23. Woche), die ich nach allen für uns in Betracht kommenden Richtungen untersucht habe. Da sie blosse Zwischenstufen zwischen den Verhältnissen der 17. und der 30. Woche bilden, ist es überflüssig, sie in ihren Einzelheiten zu beschreiben.

Die Oberflächenansicht der Fersenhaut eines Fötus aus der 30. Woche (Fig. III pl_1) ergibt nun im Vergleich zu der aus der 17. Woche zunächst einen Unterschied im Volumen der Teile. Drüsen und Drüsenleisten sind massiger geworden, die Leisten sind auseinandergerückt und die Faltenleisten zwischen ihnen haben sich ebenfalls verstärkt und treten jetzt auf das deutlichste hervor. Zwischen beiden parallelen Leistensystemen haben sich epitheliale Querleisten (ql) entwickelt, und damit ist der Rahmen vorgezeichnet, in dem die weitere Entwicklung der Leistensysteme der Plantarfläche des Fusses wie der Palmarfläche der Hand sich bewegt, ein Rahmen, der erst viele Jahre später dadurch eine gewisse Erweiterung erfährt, dass sich noch sekundäre Leisten des Rete Malpighi zwischen Drüsen und Faltenleisten entwickeln (vgl. Taf. X, Fig. VIII sl). Hand in Hand mit der Absteckung dieses Rahmens ist auch die Entwicklung der Papillen vor sich gegangen, deren jede in einen epithelialen Hohlraum hineinragt, welcher seitlich von einem Stück Drüsenleiste, einem Stück Faltenleiste und zwei Querleisten begrenzt ist.

Auf einem Querschnitt senkrecht zum System der Parallelleisten (Fig. III pl_2) tritt ebenfalls die Volumenzunahme der Schweissdrüsen sowie ihr starkes Wachstum in die Tiefe — etwa um das Doppelte ihrer früheren Länge — zutage. Dem entspricht eine starke Verdickung des Corium. Die Faltenleisten tragen jetzt insofern den Charakter, der durch ihren Namen angedeutet werden soll, als sie nunmehr auch gegen die Hornschicht zu eine leichte rinnenartige Einbuchtung zeigen.

Diese Hornschicht hat ausserordentlich an Dicke zugenommen; ihr Durchmesser beträgt, je nachdem man über den Drüsenleisten oder den Einbuchtungen der Faltenleisten misst, durchschnittlich 60 bezw. 75 μ.

Wenden wir uns nun zu der Weiterentwicklung der Haut des Fussrückens, so zeigt uns Fig. III drs$_1$, dass jetzt auch hier in enger Beziehung zu der epithelialen Basis der Schweissdrüsen die Bildung von Epithelleisten eingesetzt hat. Aus dem Oberflächenbild Fig. III drs$_1$ geht hervor, dass die hier sich eben bildenden Leisten dieselben Beziehungen zu den Fusspunkten der Schweissdrüsen besitzen wie an der Ferse, dass aber ihre Ausbildung eine viel schwächere und viel unregelmässigere ist als dort, entsprechend der viel unregelmässigeren Beschaffenheit dieser Bildungen im ausgebildeten Zustand.

Es verdient hervorgehoben zu werden, dass demnach am Fussrücken die Leistenbildung erst ziemlich lange nach Ausbildung der Schweissdrüsen erfolgt, während an der Sohle das Auftreten der Leisten das erste ist, was man wahrnimmt. Dennoch liegt hier im Grunde kein tieferer Gegensatz vor. Denn auch in der Sohle eilen, wie wir gesehen haben, die ersten Anlagen der Schweissdrüsen den sie untereinander verbindenden Zwischenstücken der Leisten in der Entwicklung voraus, hier allerdings nur sehr wenig, und der Grundtypus der Entwicklung ist somit in beiden Fällen der gleiche.

Die Ausbildung der Schweissdrüsen des Fussrückens hat im Laufe der mittlerweile verflossenen drei Entwicklungsmonate nur sehr geringe Fortschritte gemacht, wie der Vergleich von Fig. III drs$_2$ mit Fig. II drs ohne weiteres lehrt. Auch das Corium des Fussrückens hat während dieser Zeit nur unbedeutend an Dicke zugenommen. Dagegen hat die Ausbildung der Hornschicht Fortschritte gemacht, freilich in ausserordentlich viel geringerem Maße als an der Sohle. Ihr Durchmesser beträgt am Fussrücken auf diesem Stadium durchschnittlich 20 μ, also nur etwa den dritten Teil der Dicke der Hornschicht der Sohle auf dem gleichen Stadium.

In den nächsten Wochen bis zur Geburt schreitet die Entwicklung der Haut des Fussrückens beträchtlich vor, anfangs nur langsamer, so dass Präparate aus dem Anfang des 8. Monats noch keine sehr bedeutenden Unterschiede erkennen lassen, in den letzten

Wochen vor der normalen Geburt aber schneller, so dass eine Annäherung an die Verhältnisse der bisher ausserordentlich weit vorangeeilten Entwicklung der Plantarfläche erfolgt. Dies betrifft sowohl die bisher am Fussrücken so sehr verzögerte Schweissdrüsenentwicklung, als auch die ebenso rückständige Dickenentwicklung des Stratum corneum. In einer Beziehung aber bleibt ausser der für die Plantarfläche typischen Anordnung der Leistensysteme ein weiterer auffallender Unterschied auch in diesen Stadien bestehen; er betrifft die Länge der Papillen oder, was auf dasselbe hinausläuft, die Mächtigkeit der Epithelleistenentwicklung, die in der Sohlenhaut diejenige der Fussrückenhaut bedeutend übertrifft (vgl. Taf. IX, Fig. IV pl und IV drs). Bemerkenswert für später zu erörternde Fragen ist auch das Auftreten eines Oberflächenreliefs der Hornschicht an der Sohlenhaut, das in Fig. IV pl auf das deutlichste hervortritt. Die abgebildeten Präparate stammen von einem sehr grossen Fötus (Scheitelsteisslänge 37 cm), der, durch Kaiserschnitt extrahiert, gleich nach der Geburt starb. Ähnliche Bilder erhielt ich von einem etwas kleineren, aber ebenfalls geburtsreifen Fötus.

Auch strukturelle Unterschiede in der Beschaffenheit der Hornschicht, ein etwas festerer Zusammenhang der Komponenten in derjenigen der Sohle, kleine Unterschiede im Verhalten gegen Farbstoffe konnte ich besonders bei dem letzterwähnten Embryo feststellen. Sie sind indessen nicht sehr ausgesprochen, während sie bei dem gleich zu beschreibenden Neugeborenen 30 Stunden nach der Geburt an den unter dem Einflusse der Luft abschilfernden Hornschichten auf das deutlichste hervortreten. Ich komme darauf gleich zurück und wende mich nunmehr zur Betrachtung der von mir ins Auge gefassten Verhältnisse gleich nach der Geburt.

Der Geburtsakt übt, wie dies ja leicht verständlich ist, auf die mikroskopisch wahrnehmbare Beschaffenheit der Gewebsbestandteile der Haut keinen nachweisbaren Einfluss aus mit Ausnahme einer einzigen Gewebsart, der Hornschicht. Während des Fötallebens befindet sich der Organismus nach Ausbildung des Amnions andauernd in einem warmen Bade; seine Haut wird von dem die Temperatur der inneren Körperhöhlen besitzenden Fruchtwasser umspült. Infolgedessen ist der Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht während des Fötallebens ein maximaler, was wohl einen mazerierenden Einfluss auf die älteren, dem Mutterboden ent-

rückteren Schichten ausübt. Ausserdem ist zu dieser Zeit die Körperdecke den mechanischen Einflüssen der Abreibung so gut wie ganz entzogen, und dies hat zur Folge, dass diese älteren Schichten der im Zustande stärkster Quellung befindlichen Hornschicht, obschon längst mazeriert, doch noch grösstenteils ihre ursprüngliche Lage und den Zusammenhang mit den unteren Schichten beibehalten.

Bei der Geburt, die die Hautdecke des Kindes mit der Aussenwelt in Berührung bringt und sie dadurch sowohl den Einflüssen des veränderten Mediums (Austrocknung), als auch der mechanischen Reibung aussetzt, werden diese mazerierten Schichten, die mit Hauttalg und Wollhaaren vermischt als Fruchtschmiere, Vernix caseosa, bezeichnet werden, abgestossen. Ein grosser Teil davon wird schon durch das erste Bad abgelöst und beseitigt. Da aber die unteren Lagen oft noch stellenweise sehr fest an der Haut haften, pflegt man sie durch sanftes Abreiben des Kindes mit Öl zu beseitigen. Doch ist damit der Prozess noch nicht beendigt und eine weitere reichliche Abstossung tieferer Lagen erfolgt besonders im Laufe der nächsten zwei bis drei Tage nach der Geburt, sowie auch noch später. Bekanntlich findet bei anderen Säugetieren (z. B. den Edentaten, Delphinen, Suinen) gegen Ende des Fötallebens eine Abstossung der obersten Lagen der Hornschicht in continuo statt, was an eine typische Häutung, ähnlich der der Repitilien, erinnert (Weleckers Epitrichium). Wo statt einer solchen Häutung eine mehr allmähliche und diskontinuierliche Abstossung der älteren Hornschichten nach der Geburt erfolgt, wie z. B. beim Menschen, zeitigt sie doch dasselbe Ergebnis und führt zu einer ausserordentlichen Verdünnung der gesamten verhornten Bedeckung des Körpers im Laufe der ersten Woche nach der Geburt. Dies zeigen schon die beiden Fig. V pl und V drs, die von einem Neugeborenen 30 Stunden nach der Geburt herrühren. Noch weiter fortgeschritten sehen wir diese Verdünnung bei einem 26 Tage alten Kinde am Fussrücken (Fig. VI drs), wobei hervorzuheben ist, dass auf diesem Stadium an der Ferse (Fig. VI pl) die Bildung einer neuen Hornschicht bereits begonnen hat, den Ausfall auszugleichen.

Leider ist es mir nicht gelungen, mir ein ausreichendes Material zu verschaffen, um genau festzustellen, bis in welche Tiefe hinein sich die Abstossung der alten Hornschicht erstreckt, wie sie zeitlich fortschreitet und wann der Prozess, soweit er

durch die Veränderung des Milieus bedingt ist, sein Ende erreicht. Man müsste ein grosses Material an Neugeborenen aus den ersten Wochen nach der Geburt zur Verfügung haben, um dies erschöpfend festzustellen. Aus den Bildern der wenigen Neugeborenen, über die ich verfüge, möchte ich schliessen, dass überall nur die tiefsten, dem Stratum granulosum anliegenden, also jüngsten Schichten beim Aufbau der kindlichen Hornschicht Verwendung finden und also fast die ganze embryonale Hornschicht im Laufe der ersten Wochen zur Abstossung gelangt.

Bei dem 30 stündigen Neugeborenen sieht man sowohl an der Ferse (Fig. V pl) als auch am Fussrücken (Fig. V drs) die Hornschicht bis in die Tiefe hinein destruiert, von grösseren und kleineren Lücken durchsetzt. Bemerkenswert dabei ist nur eine etwas grössere Widerstandsfähigkeit auf der Plantarseite und ein besonders fester Zusammenhang in einem dünnen Strich über jeder der Faltenleisten. Wir sehen hier bereits dieselbe Struktur der Hornschicht zutage treten, die von jetzt an durch das ganze Leben hindurch für die Hornschicht der Sohle charakteristisch ist. Beim Erwachsenen sind diese Verhältnisse von Unna (1909, teilweise in Gemeinschaft mit Golodetz 1909) genauer analysiert und eine chemische Verschiedenheit der Hornzellen einerseits über den Faltenleisten (Wellentälern), andererseits über den Drüsenleisten (Wellenbergen) festgestellt worden. Die Zellen in den „Wellenbergen" bestehen ausser aus Keratin A vorwiegend aus Albumosen, Unna nennt sie deshalb auch Albumosezellen, während die Zellen der Wellentäler (über den Faltenleisten) der Hauptsache nach aus Keratin A und B bestehen, also eine viel hochgradigere Verhornung erkennen lassen und deshalb von Unna als Hornzellen proprio sentu bezeichnet werden. Dieser Unterschied, der sich durch Differentialfärbungen nicht nur beim Erwachsenen, sondern wie ich nach meinen auf verschiedene Weise gefärbten Präparaten mitteilen kann, auch beim Säugling nachweisen lässt, ist, worauf die Bilder der sich nach der Geburt abstossenden Haut mit Deutlichkeit hinweisen, schon embryonal vorgebildet (vgl. Fig. V pl). Spuren ähnlicher Struktureigentümlichkeiten zeigen sich übrigens auch in den Wellentälern der Haut des Fussrückens (Fig. V drs), aber hier nur ganz andeutungsweise, und überhaupt fehlt der Hornschicht hier in allen Phasen die straffe Gliederung, die die Hornschicht der Sohlenhaut auszeichnet.

Am 26. Tage ist der Prozess der Destruktion und Abstossung sowohl an der Sohle (Fig. VI pl) als auch am Fussrücken (Fig. VI drs) längst beendigt, und es hat sich überall bereits eine neue, unter dem Einfluss des trockenen Mediums erwachsene Hornschicht gebildet. Wie der Vergleich der beiden Figuren lehrt, ist aber auch jetzt wieder die Dicke dieser neugebildeten Schicht eine sehr viel beträchtlichere an der Ferse als am Fussrücken. Die Hornschicht der Sohle besitzt jetzt und von da an dauernd (und noch immerfort auch ohne funktionelle Beeinflussung zunehmend) eine um ein vielfaches grössere Dicke als die des Fussrückens.

Dabei tritt jetzt im trockenen Medium ein weiterer Unterschied zwischen der Hornschicht der Sohlenfläche und der des Fussrückens (wie des ganzen übrigen Körpers mit Ausschluss der Hohlhand) deutlich hervor; er betrifft die Beschaffenheit, nicht bloss das Volumen dieser Schicht. Sehr deutlich ist dies in den Fig. VII wahrzunehmen, die die Verhältnisse bei einem 3 Monate alten Säugling darstellen. Die Hornschicht der Sohlenfläche (einschliesslich der Unterseite der Zehen) zeigt eine sehr regelmässige Anordnung in ihrer Schichtung (Fig. VII pl), sie ist frei von Lücken, fasert sich nicht leicht auf und ist mit einem Wort viel widerstandsfähiger als die Hornschicht des Fussrückens (Fig. VII drs). Aus Gründen, die sich uns unten aus der Untersuchung der funktionellen Schwielen ergeben werden, sind wir zu der Annahme gezwungen, dass fortgesetzter mechanischer Druck die Festigkeit und Widerstandsfähigkeit der Hornschicht erhöht. Aber augenblicklich behandeln wir ein Lebensalter, wo diese besondere Beeinflussung noch fortfällt, nämlich das Säuglingsalter, und dennoch finden wir diese Besonderheit der Hornschicht der Sohlenfläche bereits deutlich ausgesprochen. Wir finden sie auch, wiewohl etwas abgeschwächt, an den Sohlen solcher älterer Individuen, die diese Flächen niemals zum Stehen oder Gehen benutzt haben, nämlich an den Sohlen kongenitaler Klumpfüsse höchsten Grades. Es liegt also hier eine erblich determinierte Eigentümlichkeit der Hornschicht der Plantarfläche (ebenso übrigens auch der Palmarfläche) vor.

Bekanntlich hat Zander (1888) den Satz aufgestellt, dass die Zellen der Hornschicht an Handfläche und Fußsohle in der Regel viel weniger abgeplattet sind als diejenigen an allen anderen

Körperstellen, wo sie nicht nur viel flacher, sondern auch nach Zanders Ansicht ganz und gar, d. h. auch im Inneren, verhornt sein sollen. Dem hat bereits Kölliker (1889) widersprochen und an dieser Darstellung nur das für richtig erklärt, „dass die Hornschichtzellen in den Gegenden mit dünner Hornschicht im allgemeinen mehr abgeplattet sind". Von einer totalen Verhornung irgend welcher Zellen der Oberhaut kann nach den Untersuchungen von Unna (vgl. z. B. 1908, 1909) überhaupt nicht die Rede sein, da „auch die allerhärtesten Hornsubstanzen, wie z. B. die Hörner und Hufe, immer nur zu einem kleineren Teil (bis höchstens 40 %) die Umwandlung in Keratin durchmachen, dabei aber nichtverhorntes Eiweiss (Hornalbumosen) in grosser Menge fest einschliessen."

Es liegt nahe, daran zu denken, dass die verschieden grosse Festigkeit der Hornschichten in den verschiedenen Regionen durch den verschiedenen Bestand an Unnaschen Hornzellen und Albumosezellen (vgl. oben S. 177) bedingt oder wenigstens mitbedingt ist. Die Befunde beim Neugeborenen (Fig. V) legen die Vermutung nahe, dass die Hornzellen besonders fest untereinander zusammenhängen und in ihrer streifenförmigen Anordnung vielleicht wie ein versteifendes Gerüst funktionieren. Aber bis wir nicht über das Schicksal der Epithelfaserung und der Zellbrücken während der Verhornung näher unterrichtet sind (Unna [1909], S. 1730) und damit in das eigentliche Wesen des Zusammenhaltens der verhornten Zellen eingedrungen sind, lassen sich über die Ursache der mehr oder weniger festen Zusammenfügung der Hornschicht keine gut zu begründenden Vermutungen äussern. Wir müssen uns also mit der Feststellung der Tatsache begnügen, dass jene charakteristische Differenz in der Beschaffenheit der Hornschichten an Sohle und Fussrücken schon beim Säugling, also vor der verschiedenartigen funktionellen Inanspruchnahme der betreffenden Körperstellen auftritt, ja sogar schon embryonal vorgebildet ist (vgl. Fig. V), dass diese Differenz aber andererseits später durch die Wirkung des Druckes noch verstärkt wird, und dass ferner unter dem Einfluss eines langdauernden und sehr häufig wiederholten Druckes die Hornschicht auch anderer Körperstellen eine der Sohle und Handfläche ähnliche Beschaffenheit annehmen kann (funktionelle Schwielen).

Wir wollen damit unsere vergleichende Betrachtung der Entwicklung der Sohlenhaut einerseits, der Haut des Fussrückens

andererseits, abschliessen. Auf weitere Eigentümlichkeiten der Sohlenhaut im Säuglingsalter und in den späteren Lebensjahren komme ich unten noch zurück. Unsere bisherige Untersuchung hat ergeben, dass nicht nur Albin Recht hatte, als er betonte, dass im Fötalleben die Entwicklung der Haut der Palma und Planta derjenigen anderer Körperstellen bedeutend vorauseilt, sondern dass sich ein ganz paralleler Vorgang im Säuglingsalter vollzieht. Nach Abstossung der im Fötalleben gebildeten Hornschicht nach der Geburt bildet sich auf der Ferse und anderen Teilen der Planta eine sehr viel dickere Hornschicht als am ganzen übrigen Körper (mit Ausnahme der Palma), eine Hornschicht, die auch qualitativ von jener verschieden ist, und zwar geschieht dies während einer fast ein Jahr lang dauernden Periode, in welcher die Haut der Fußsohle keineswegs anderen äusseren Einflüssen unterliegt, als die des übrigen Körpers, in welcher also eine spezifische funktionelle Inanspruchnahme ebenso fortfällt wie im Embryonalleben.

Als durchaus nicht stichhaltig haben sich die oben (S. 165) zitierten Einwände Shattocks erwiesen. Da Shattock nur ein einziges, noch dazu ungünstiges Stadium untersucht hat, da er obendrein die Hornschicht der Palma und Planta in keiner Weise berücksichtigt hat, so ist ihm der eigentliche Tatbestand ganz verborgen geblieben, und die Auffassung der älteren Anatomen hat sich als richtig erwiesen und ist durch die bisher noch nicht berücksichtigten Verhältnisse während der Säuglingszeit in bedeutsamer Weise bekräftigt worden.

Eine andere Frage ist es, ob der von Darwin gezogene Schluss, dass jene Eigentümlichkeiten eine Folge der vererbten Wirkungen des eine lange Reihe von Generationen hindurch erfolgten Druckes seien, ein durchaus zwingender ist. Glücklicherweise gibt es aber zur Entscheidung dieser Frage noch andere und zwar noch wichtigere Kriterien als die bisher herangezogenen. Die Tatsachen, auf welche sie sich stützen, sollen in den folgenden Abschnitten dargestellt werden.

Zweiter Abschnitt.

Die topographischen Verschiedenheiten der Hornschicht der Sohlenfläche.

Als ich meine Untersuchungen begann, hatte ich gleich mein Augenmerk darauf gerichtet, festzustellen, ob sich etwa

bei der Entwicklung der Sohlenhaut regionale Verschiedenheiten der Dicke an Rete und Hornschicht nachweisen lassen. So verglich ich vor allem diese Dickenverhältnisse in der Fersenregion mit denen des Fussgewölbes bei Embryonen, fand aber keine hinreichend ausgeprägten Unterschiede, um daraus sichere Schlüsse zu ziehen, und gab deshalb die Verfolgung dieses Gesichtspunktes zunächst auf. Glücklicherweise wurde ich aber später durch ein Untersuchungsmaterial besonderer Art wieder auf diesen wichtigen Punkt gelenkt.

Ich legte mir nämlich die Frage vor, wie denn ein durch lange Zeit fortgesetzter Druck auf Hautstellen wirkt, die normalerweise keinem solchen Druck unterliegen, z. B. auf die Haut des Fussrückens und war genötigt, da ich in der pathologisch-anatomischen Literatur keine befriedigende Antwort auf diese Frage fand, dieselbe selbst näher zu untersuchen. Das beste Objekt schien mir von vornherein die Schwielenbildung an kongenitalen Klumpfüssen zu sein, und nach längerem vergeblichen Bemühen erhielt ich endlich durch die Güte von Herrn Professor Benda ein für meine Zwecke ausserordentlich geeignetes Präparat dieser Art. Auf die Ergebnisse der Untersuchung der Schwielenbildungen werde ich im nächsten Abschnitt eingehen. Sonderbarerweise kam mir erst verspätet der naheliegende Gedanke, dass es wichtig wäre, an einem solchen Objekt nicht nur diejenigen Teile zu untersuchen, die abnormerweise einem ungewöhnlichen Druck unterliegen, sondern auch diejenigen, die dem sie normalerweise treffenden Druck dauernd entrückt sind, also nicht bloss die Schwielenbildungen des Fussrückens, sondern auch die ausser Funktion gesetzte Sohlenfläche. Diese Untersuchung hat Ergebnisse geliefert, auf die ich unten näher eingehen werde. Gleichzeitig fiel mir aber dabei auf, dass an dieser funktionslosen Sohle sich in der Volumenentfaltung der Teile topographische Verschiedenheiten bemerkbar machten, die wir von der funktionierenden Sohle her kennen und lediglich als Ergebnisse des die verschiedenen Stellen verschieden stark treffenden Druckes anzusehen gewohnt sind. Ich griff daraufhin wieder auf Jugendstadien zurück, diesmal aber auf ältere als die bisher von mir in dieser Richtung allein berücksichtigten Embryonen, und untersuchte die Frage, ob nicht auch an den Sohlen von Säuglingen vor dem Beginn der Funktion des Stehens und Gehens dieselbe Erscheinung

nachzuweisen sei. Die Antwort fiel ebenso deutlich, ja noch deutlicher in bejahendem Sinne aus wie am kongenitalen Klumpfuss, und es wird sich daher empfehlen, beide Untersuchungsreihen zusammen zu behandeln.

In Textfig. A gebe ich eine Abbildung des Klumpfusses, der mir zur Untersuchung vorgelegen hat. Es ist der rechte Fuss einer 59 jährigen Frau. Wie die Untersuchung desselben lehrt, ist beim Stehen und Gehen lediglich der Fussrücken benutzt und die Sohle, deren Kleinzehenrand sich auch äusserlich deutlich markiert (vgl. die Textfigur), von dieser Funktion völlig aus-



Fig. A.
Klumpfuss einer 59 jährigen Frau.

geschaltet worden. Zwei Gegenden des Fussrückens haben beim Gehen und Stehen den Boden berührt und hier ist es zu mächtiger Schwielenbildung gekommen: erstens die Gegend über dem Talus, wo sich die Hauptschwiele entwickelt hat, und zweitens die Gegend über der fünften, vierten und dritten Zehe, wo ebenfalls echte funktionelle Schwielen (keine Clavi) entstanden sind, die zwar

schwächer als diejenigen über dem Talus, aber immerhin noch sehr beträchtlich sind. Diejenige über der fünften Zehe ist die bedeutendste, die über der dritten Zehe die schwächste. Sehr lehrreich ist es, zu sehen, wie die Patientin ganz unwillkürlich durch verschiedene Beugungen innerhalb der Gelenkverbindungen der Fussknochen, ganz besonders durch eine scharfe Abknickung in der Chopartschen Gelenklinie (Art. talo-navicularis und calcaneocuboidea), eine Form des Fussrückens hervorgerufen hat, die zusammen mit den beträchtlichen Schwielen ein förmliches Gewölbe erzeugt. Dasselbe gestattet dem Fusse beim Stehen ein Ruhen auf zwei Fusspunkten und ermöglicht beim Gehen eine Art Abwicklung. Die Abknickung prägt sich auf unserer Textfigur durch eine scharfe Falte aus. Durch den anatomischen Befund: Torsion der Unterschenkelknochen nach innen, scharfe Abknickung des Fusses in der Gegend des Chopartschen Gelenkes, ausserordentliche Straffheit der Gelenkkapseln und Bänder. Fehlen jeder Atrophie des Beines erweist sich das vorliegende Präparat wohl mit Sicherheit als ein angeborener Klumpfuss (vgl. Wolff [1913], S. 87) und zwar höchsten Grades. Anamnestisch liess sich nichts Näheres feststellen.

Zum Vergleiche mit den Befunden an der Sohle dieses Klumpfusses zog ich erstens die Verhältnisse an der Sohle des normalen Fusses von Erwachsenen in verschiedenen Lebensaltern sowie von Kindern verschiedenen Alters nach Beginn des Gehens heran; zweitens aber untersuchte ich die Sohlen von Säuglingen vom dritten bis achten Lebensmonat, bei denen sich natürlich jede Beeinflussung der Sohlenstruktur durch die Funktion des Gehens und Stehens noch mit völliger Sicherheit ausschliessen lässt. Auch hatte ich Gelegenheit die Sohlen zweier Kinder im zweiten Lebensjahr zu untersuchen, die wegen hochgradiger Schwäche niemals gelaufen sind. Besonders genau habe ich zwei Sohlen, diejenige eines Säuglings vom Anfang und diejenige eines solchen vom Ende des sechsten Monats, topographisch durchgearbeitet und gebe eine Stichprobe der Untersuchung der letzteren auf den Abbildungen von Textfig. B_3, S. 185. Die Textfiguren B_1 illustrieren die entsprechenden Verhältnisse an der Sohle eines durchaus normalen, mit schönem Gewölbe versehenen Fusses einer 50 jährigen Frau.

Wir alle wissen, dass die Dicke der Hornschicht an verschiedenen Stellen unserer Sohle sowie der Unterfläche unserer

Zehen ausserordentlich verschieden ist. Schon beim Abtasten bemerken wir, dass die Verschwielung an der Ferse (Gegend des Tuber calcanci) am stärksten ist, dass dagegen die Sohlenhaut im Fussgewölbe verhältnismässig dünn und zart ist, sehr viel zarter als in den entsprechenden Meridianen des äusseren Fussrandes. In der Metatarsalgegend, besonders entsprechend den Capitula der Metatarsalknochen (Ballengegend), nimmt die Dicke der Hornschicht bedeutend zu. Besonders in der Gegend des Kopfes des ersten Metatarsalknochens kommt es oft zu einer abgegrenzten stärkeren Verschwielung. Ich möchte aber gleich hier hervorheben, dass wir es dabei wohl mit einer durch unser Schuhwerk bedingten Besonderheit zu tun haben, und dass diese Dinge beim zeitweilig oder dauernd barfuss gehenden Menschen anders liegen dürften. Der Lederschuh ist gewöhnlich von vornherein so gebaut, dass beim Stehen in demselben nur die Ferse und die Metatarsalgegend auf dem Boden ruht. Nimmt dann aber beim Gebrauch die lederne Sohle mehr und mehr eine starke gegen den Boden gerichtete Konvexität an, was sie infolge der Abwicklung beim Gehen regelmässig tut, so erfolgt eine vollständige Ausschaltung des Kontakts der Zehen mit dem Boden während des Stehens. Der Druck auf die verschiedenen Teile der Sohle ist infolgedessen beim Stehen im Lederschuh ein wesentlich anderer als ohne dieses Mittelglied, und auch die Druckverhältnisse beim Gehen sind dadurch entsprechend, wenn auch wohl nicht in gleichem Maße, beeinflusst. Wir können also sagen, dass beim Gehen und Stehen in unserem Schuhwerk eine ungleichmässigere Verteilung des Druckes, eine übermässige Belastung der Metatarsalgegend unter gleichzeitiger Entlastung der Zehen stattfindet, während sich der Druck beim Barfussgänger viel gleichmässiger auf Metatarsus und die Endphalangen der Zehen verteilt. Wir werden darauf unten noch zurückzukommen haben.

Zieht man Linien auf der Sohle sagittal von der Ferse zu den Spitzen der fünf Zehen, so durchläuft die am meisten medial gelegene derselben, also diejenige, die das Fussgewölbe durchschneidend von da über das Capitulum des ersten Metatarsalknochens und dann über Grundphalange und Endphalange der grossen Zehe läuft, Stellen, welche einem sehr verschiedenartigen Druck beim Gehen und Stehen unterliegen und deshalb die verschiedensten Grade der Verschwielung zeigen. Diese Linie habe ich meinen

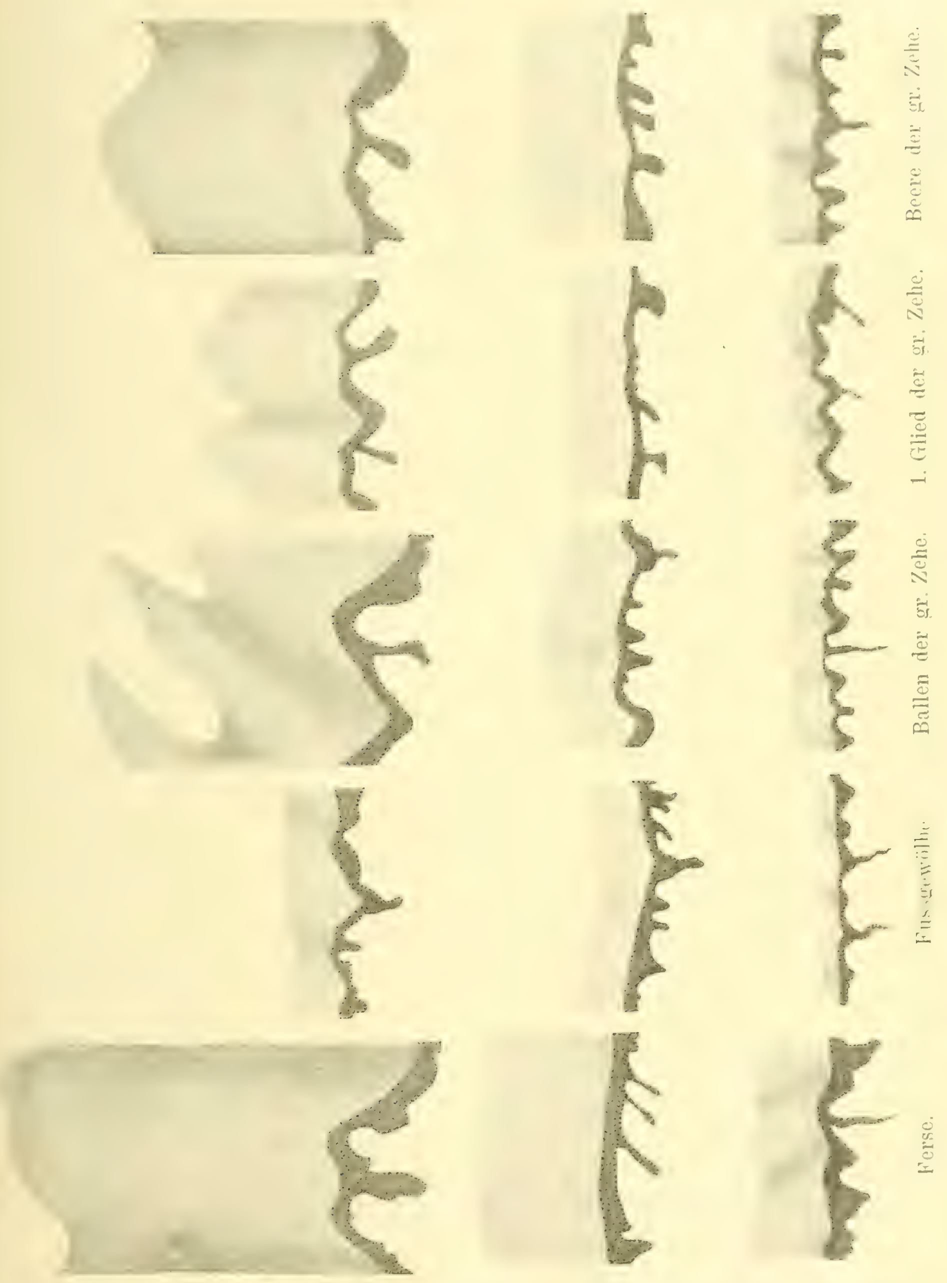


Fig. B1. Normaler Fuss, 50jähr. Frau. Fig. B2. Klumpfuss. Fig. B3. $6\frac{3}{4}$ monat. Säugling.

topographischen Vergleichungen zugrunde gelegt und werde mich in der folgenden Darstellung im wesentlichen auf die fünf Stellen: Ferse, Gewölbe, mediale Metatarsalgegend, erstes Glied der grossen Zehe und Endglied (Beere) derselben beschränken. Untersucht habe ich natürlich auch die mehr lateral gelegenen Teile der Sohle und die anderen Zehen und habe übereinstimmende Befunde erhalten. Da ich den Gegenstand aber nicht monographisch behandeln will, so werde ich zunächst hier die Darstellung der Verhältnisse in diesem beschränkten Abschnitt in den Vordergrund stellen und erst am Schluss kürzer auf Befunde in den mehr lateral gelegenen Teilen Bezug nehmen. Ich bemerke ferner, dass ich in diesem Abschnitt die „Verschwielung" lediglich nach der Dicke der Hornschicht berechne. Die mit ihr in enger Beziehung stehende Volumenentwicklung des unverhornten Epithels wird erst im folgenden Abschnitt die gebührende Berücksichtigung finden.

Die oberste Reihe der Textfiguren Seite 185 (B_1)[1] stellt die Befunde der Verschwielung in den behandelten Abschnitten an dem normalen Fuss einer 50 jährigen Frau dar. Diese Figuren geben uns die anatomische Bestätigung dessen, was uns schon die Betrachtung und Betastung der betreffenden Hautstellen andeutet. Erwähnen will ich, dass ich für das Endglied der grossen Zehe hier wie auch bei den anderen Objekten die Dickenverhältnisse des distalen Abschnittes der Zehenbeere zur Darstellung gebracht habe, wo die Verschwielung stärker ist als am proximalen.

Wenden wir nun unsere Aufmerksamkeit von der Reihe B_1, deren Objekte während eines 50 jährigen Lebens einem sehr verschiedenartigen Druck ausgesetzt gewesen sind, zu den Reihen B_2 (Klumpfuss) und B_3 (6 3/4 Monate alter Säugling), so begegnen wir in den beiden unteren Reihen ganz entsprechenden topographischen Unterschieden der Verschwielung wie in der oberen, obwohl doch während des individuellen Lebens die durch Gehen und Stehen bedingten Druckunterschiede in beiden Fällen ganz fortfallen. Die absoluten Maße sind natürlich entsprechend dem Alter der Objekte und dem Druck der auf die Sohle des normalen Fusses (B_1) im Gegensatz zum Klumpfuss (B_2) gewirkt hat, sehr verschieden. So beträgt die mittlere Dicke der Hornschicht der Ferse an der unter-

[1]) Die Textfiguren B_1, B_2, B_3 sind sämtlich bei derselben, 40 fachen Vergrösserung gezeichnet.

suchten Stelle des normalen Fusses der Reihe B_1 1.11 mm: an der Ferse des Klumpfusses 0.41 mm: an der des Säuglings 0.25 mm. Die Unterschiede in der Verschwielung entsprechen sich aber in auffallend hohem Grade, wie der Vergleich der drei Kurven Textfig. C zeigt, in denen die mittlere Dicke der Hornschicht an Ferse, Fussgewölbe, Ballen, 1. Glied und Beere der grossen Zehe[1]) in der oberen Kurve für den normalen Fuss der 50jährigen Frau, in der mittleren für den Klumpfuss, der unteren für den 6 ¾ Monate alten Säugling eingetragen ist. Beim Klumpfuss und

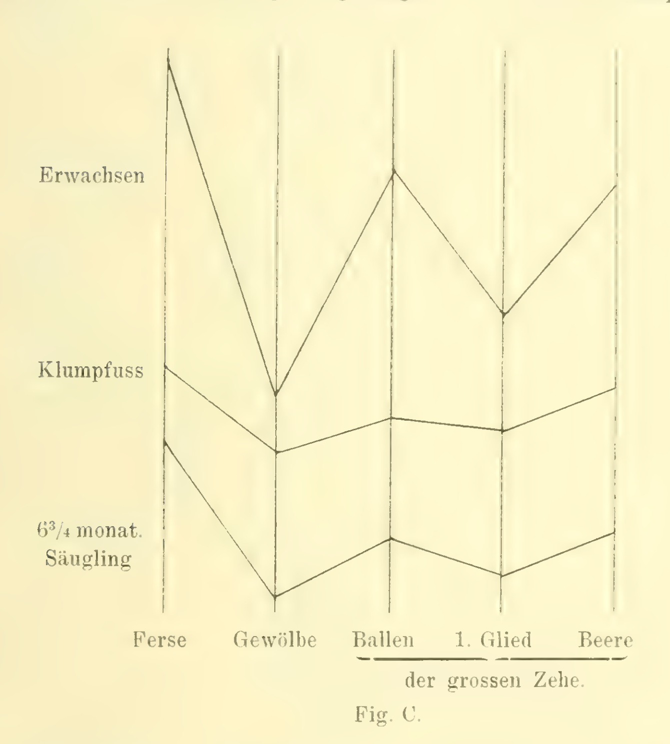


Fig. C.

Säuglingsfuss entsprechen sich die Verhältnisse in recht hohem Maße. Die Kurve des normalen Fusses unterscheidet sich im wesentlichen nur durch die viel erheblichere Steilheit ihrer Gefälle von den beiden anderen, und diese Eigentümlichkeit ist ohne jeden Zweifel auf den Einfluss des Druckes beim Gehen und Stehen

[1]) Die Kurven sind so angelegt, dass die Abstände zwischen den fünf Punkten gleich genommen worden sind, die wirkliche topographische Lage der Punkte also im Schema keine Berücksichtigung gefunden hat.

zurückzuführen, dem sowohl die Sohle des Klumpfusses als auch des Säuglingsfusses dauernd entzogen geblieben ist.

Bei dem normalen Fuss der 50jährigen Frau, dessen Verschwielungsverhältnisse in Textfig. B_1 dargestellt und der Kurve C_1 zugrunde gelegt sind, ist die mittlere Dicke der Hornschicht über dem Cap. ossis metatarsi I und in den distalen Abschnitten des Endgliedes der grossen Zehe etwa gleich. An anderen Füssen übertrifft die Verschwielung der Ballengegend diejenige des Endes der Zehenbeere bisweilen nicht unerheblich. An den Füssen, deren Sohlenfläche während des individuellen Lebens keinem funktionellen Druck ausgesetzt war (Klumpfuss, Säuglingsfüsse), finde ich dagegen durchgehends die Hornschicht über den Enden der Zehenbeeren ein klein wenig dicker als in der Ballengegend. Die Unterschiede sind allerdings nur sehr gering; Verhältnis etwa wie 10 : 8 bis 10 : 9. Immerhin fand ich in allen untersuchten Füssen dieser Art das Verhältnis zuungunsten der Ballenverschwielung verschoben. Diese einzige, noch dazu sehr kleine Unstimmigkeit in den Verschwielungsverhältnissen der funktionsbeeinflussten Sohlen einerseits, der funktionslosen andererseits glaube ich auf den oben schon bereits behandelten Umstand zurückführen zu dürfen, dass die übermässige Verschwielung der Ballengegend eine Folge des beständigen Gebrauchs von ledernem Schuhwerk ist, und dass man höchst wahrscheinlich in diesem Punkte beim funktionierenden Fusse andere Verhältnisse finden wird, wenn man statt der Städter Menschen untersucht, die wie die bäuerliche Bevölkerung in manchen Gegenden mit Vorliebe, oder wie viele Naturvölker stets barfuss geht.

In allen übrigen Beziehungen begegnet man aber einer getreuen, wenn auch quantitativ abgeschwächten Widerspiegelung der Verschwielungsverhältnisse der funktionierenden Sohle bei der nicht funktionierenden des Klumpfusses oder Säuglingsfusses. So z. B. auch in den Verschwielungsverhältnissen der einzelnen Zehenglieder. Das erste Glied der grossen Zehe berührt beim funktionierenden Fuss noch in einem streifenförmigen Bezirk leicht den Boden und zeigt dementsprechend eine mässige Verschwielung, die sich zu derjenigen der Grosszehenbeere etwa verhält wie 1 : 2. Die ersten und Mittelglieder der übrigen sind dagegen durch die stärkere Einkrümmung dieser Zehen der direkten Berührung mit der Unterlage entzogen, ihre Hornschicht ist infolgedessen nicht

verdickt und entspricht etwa derjenigen des Fussgewölbes, so dass sie zu dem der Zehenbeeren in einem Verhältnis von 1 : 4 bis 1 : 5 steht. Ganz dasselbe spiegelt sich, wiederum natürlich in entsprechender Abschwächung, in den Verhältnissen der Verschwielung der einzelnen Zehenglieder bei Säuglingen wieder, und auch bei ihnen ist die Dicke der Hornschicht der proximalen Glieder der zweiten bis fünften Zehe nur gleich derjenigen des Gewölbes, zuweilen sogar noch etwas geringer, während sie an dem ersten Glied der grossen Zehe die des Gewölbes nicht unerheblich (bei dem in Textfig. B_3 dargestellten Säugling z. B. um $^3/_{10}$) zu übertreffen pflegt.

Was endlich die Verschwielung der Endglieder selbst, der sogenannten Zehenbeeren anlangt, so ist dieselbe am normalen funktionierenden Fuss in den distalen Abschnitten stets am stärksten ausgesprochen, was ohne Zweifel darauf zurückzuführen ist, dass die Abstossung des Körpers beim Akte des Gehens und Laufens von den Spitzen der Zehen, besonders der grossen Zehe aus erfolgt. Sagittalschnitte durch die Haut der Zehenbeeren zeigen nun auf das deutlichste auch dieses distale Anwachsen der Dicke der Hornschicht am Fusse des Säuglings vorgebildet. Dasselbe liess sich am Klumpfuss nachweisen. Ebenso fand ich bei den Säuglingen eine von der Beere der ersten bis zur Beere der fünften sukzessiv fortschreitende Abnahme der Verschwielung, wie sie sich ebenfalls am normal funktionierenden Fuss ausprägt.

Nur beim Klumpfuss fand ich die Beere der fünften Zehe, in geringerem Maße auch der vierten Zehe, stärker verschwielt als die der übrigen Zehen. Dieses zunächst unverständliche Ausnahmeverhältnis erklärt sich aber leicht durch die statischen Verhältnisse, die in diesem besonderen Falle vorliegen und von denen man sich durch Betrachtung der Textfig. A, S. 182, unterrichten kann. Beim Stehen und Gehen stützte sich dieser Fuss einerseits auf die Talusschwiele, andererseits auf die Schwielen am Rücken besonders der fünften und vierten Zehe. Dabei wurde die laterale distale Kante der Sohle stark gegen die Beere der fünften, weniger gegen diejenige der vierten Zehe gepresst, und der Druck, der beim Stehen und Gehen beständig auf diese Stellen einwirkte, hat hier zu einer mässigen lokalen Verdickung der Hornschicht geführt. Dass dies sich wirklich so verhält, konnte ich dadurch sicherstellen, dass ich die Stelle der Sohle untersuchte, die

gegen die betreffende Stelle der Zehe gepresst wurde und natürlich demselben Druck unterlag. Auch an dieser Stelle fand ich eine rein lokale Steigerung der Verschwielung.

Der vorliegende Abschnitt hat gezeigt, dass die topographischen Dickenunterschiede an der Sohle und der Unterfläche der Zehen in allen ihren wesentlichen Zügen und nur in etwas abgeschwächten Proportionen sowohl am Fusse junger Säuglinge, als auch beim kongenitalen Klumpfuss, also unter Verhältnissen anzutreffen sind, in denen die Funktion im individuellen Leben noch keinen Einfluss ausgeübt haben kann. Diese Unterschiede sind also bereits erblich determiniert. Dieser Schluss wird noch durch die Resultate des folgenden Abschnittes in hohem Maße bekräftigt werden, in dem wir untersuchen wollen, wie denn der im individuellen Leben fortgesetzt ausgeübte Druck auf nicht prädestinierte Hautstellen (z. B. Fussrücken) wirkt, und welche Erscheinungen wir umgekehrt an den prädestinierten Hautstellen beobachten, wenn der normalerweise ausgeübte Druck fortfällt. Wir werden dabei Gelegenheit haben, auch auf die Epithelverhältnisse und auf das äussere Relief, sowie auf Struktureigentümlichkeiten der Hornschicht beim Klumpfuss und bei den Säuglingsfüssen näher einzugehen, die wir bisher noch nicht berücksichtigt haben.

Hier finde zum Schluss noch ein möglicher Einwand kurze Erwähnung, dem ich besondere Aufmerksamkeit zugewendet habe. Man könnte sagen, vom Augenblick der Geburt an, also auch beim Säugling, unterliege der Fuss allerlei Druckreizen, und es müsse erst bewiesen werden, dass ihre Beteiligung an den geschilderten Unterschieden der Verschwielung der Säuglingssohle auszuschliessen sei. Dies lässt sich nun in der Tat beweisen. Die Abstufungen in der Verschwielung entsprechen, wie wir gesehen haben, genau den Druckunterschieden beim Stehen und Gehen, Druckunterschiede, die für die Sohlen von 6—7 Monate alten Säuglingen, die ich besonders genau untersucht habe, überhaupt nicht in Frage kommen. Die Druckreize, die die Sohlen der Säuglinge treffen, sind in der Regel nur schwache, vorübergehende und topographisch ganz anders abgestufte. Es gibt Säuglinge, die die Gewohnheit haben, ihre Füsse aneinander zu wetzen. Ich habe mir über dieses Wetzen von pädiatrischer Seite Auskunft geholt, und Herr Dr. E. Aschenheim hat die

Güte gehabt, darüber im städtischen Säuglingsheim in Dresden Beobachtungen anzustellen. Nur bei einer Minderzahl der Säuglinge, es sind das besonders neuropathisch veranlagte Individuen oder solche mit leicht verletzlicher Haut („exudative Kinder") mit wahrscheinlich vermehrtem Juckreiz, beobachtet man das Aneinanderwetzen der Füsse. Es handelt sich dabei natürlich auch nicht um einen einigermassen beständigen, gleichmässigen Druck der allein erfahrungsgemäss zur Verschwielung führt, sondern um ein dem Kratzen ähnliches Schaben und Jucken, das ganz andere Wirkungen ausübt, die Hornschicht abreibt, Entzündungserscheinungen hervorruft und nicht selten zu einem Dekubitus der Haut an der medialen Seite des Fusses und besonders der inneren Seite der Knöchel führt. Dazu kommt, dass die Haut des Fussgewölbes davon viel stärker betroffen wird als der ganze laterale Fussrand. Letzterer zeigt sich aber beim Säugling stets ungleich stärker verschwielt (Hornschicht durchschnittlich doppelt so dick) als das Gewölbe. Das Wetzen kann also unmöglich für diejenige Abstufungen der Verschwielung der Sohle des Säuglings, die wir kennen gelernt haben, verantwortlich gemacht werden. Seltener als dieses Aneinanderwetzen der Füsse findet bei gewissen Säuglingen beim Schreien ein Anstemmen der Füsse gegen die Unterlage statt. Der auf diese Weise ausgeübte Druck findet aber erstens gegen ein weiches, nachgiebiges Widerlager statt, ist an sich nur ein schwacher und vorübergehender und erfolgt ebenfalls in einer mit den in Frage kommenden topographischen Abstufungen nicht korrespondierenden Weise. Die Spitzen der Zehenbeeren z. B., welche im Säuglingsalter nächst der Ferse die stärkste Verschwielung aufweisen, werden von ihm so gut wie gar nicht betroffen. Ebenso ausschlaggebend für die Beurteilung ist ferner, dass dieses eigentümliche Gebahren nur bei einer sehr kleinen Zahl (5—6%) der Säuglinge beobachtet wird, während sich die geschilderten Abstufungen der Verhornung bei allen Säuglingen fanden, die ich daraufhin untersucht habe.

Wir finden also, dass keine im individuellen Leben der Säuglinge erfolgenden äusseren Einwirkungen für die Abstufungen der Verschwielung der Sohle, wie wir sie aufgefunden haben, verantwortlich gemacht werden können. Diese Abstufungen, die genau den Druckverhältnissen beim Stehen und Gehen entsprechen, aber lange vor Beginn dieser Funktionen auftreten und sich an

der Sohle des Klumpfusses auch beim dauernden Ausbleiben dieser Funktionen erhalten, verdanken demnach erblich übermittelten Dispositionen ihre Entstehung.

Dritter Abschnitt.

Die unmittelbare Wirkung der Funktion und die Folgen des Ausbleibens der Funktion.

Um die unmittelbare Wirkung eines starken und sehr häufig wiederholten Druckes auf Hautstellen zu studieren, denen keine erbliche Tendenz zur Verschwielung innewohnt, wäre es am einfachsten, sich des Experiments zu bedienen. Das Experiment im gewöhnlichen Sinne mit nachfolgender anatomischer Untersuchung kann jedoch für unser Untersuchungsobjekt, die menschliche Haut, nicht in Frage kommen. Glücklicherweise besitzen wir aber gerade in diesem Falle in häufig vorkommenden „Naturexperimenten" einen Ersatz, der das planvoll vom Menschen durchgeführte Experiment gleichwertig ersetzt und jedenfalls auf die von uns zu stellenden Fragen durchaus bestimmte und eindeutige Antworten gibt. Wir wissen längst, dass an Hautstellen, die einem starken und beständig wiederholten Druck ausgesetzt sind, Schwielenbildungen entstehen. Ist dieser Druck einseitig auf einen verhältnismässig sehr kleinen Bezirk beschränkt, so bildet sich eine lokalisierte zapfenförmige Verdickung der Hornschicht von eigenartiger sehr harter Beschaffenheit, die bei stärkerer Entfaltung stempelförmig auf die unter ihm liegende Epidermisschicht und den Papillarkörper drückt, sekundär zu ihrer Abplattung führt, die Cutis zum Schwinden bringt, so dass es sogar zu ihrer Perforation kommen kann. Würde man solche Gebilde, die bekanntlich als Hühneraugen, Clavi, bezeichnet werden, in statu nascendi untersuchen, was meines Wissens bisher noch nicht geschehen ist, so würde man sicherlich als Ausgangspunkt keine Abplattung, sondern eine Verdickung des unverhornten Epithels an der betreffenden Stelle finden. Übrigens wird für die Peripherie des Clavus eine solche Verdickung des Rete Malpighi und Papillarkörpers gelegentlich angegeben.

Wichtiger für die uns beschäftigenden Fragen ist das Naturexperiment eines dauernden nicht zirkumskripten Druckes auf eine derartige Hautstelle. Wir wissen, dass sich dann unscharf begrenzte nicht schmerzhafte Schwielen bilden. Über die

genauere Beschaffenheit derselben habe ich aber in der pathologisch-anatomischen Literatur, soweit sie mir zugänglich war, nur unzulängliche, teilweise sogar direkt irrige Angaben gefunden, so z. B. die Behauptung, in solchen Schwielen seien Epithelleisten und Papillarkörper abgeflacht (vgl. L. Jores in Aschoffs Lehrb. d. path. Anat., 2. Bd., S. 960. 1911).

Da mir diese Angaben nach dem, was ich über die unmittelbare Wirkung des Druckes an der Sohlenhaut in Erfahrung gebracht hatte, äusserst unglaubwürdig erschienen, beschloss ich einige solcher funktionellen Schwielen selbst näher zu untersuchen, wozu mir die Schwielen am Fussrücken, wie man sie bei ausgesprochenen Klumpfüssen findet, die besten Untersuchungsobjekte zu sein schienen, zumal ich vom Vergleich der Sohlenhaut mit der Haut des Fussrückens bei meinen ontogenetischen Untersuchungen ausgegangen war. Hierfür bot sich mir in dem Klumpfuss der Bendaschen Sammlung ein Untersuchungsobjekt, an dem sich alle mich interessierenden Grundfragen in befriedigender Weise beantworten liessen. Bei der Darstellung der Befunde verzichte ich hier wie in den früheren Abschnitten auf ein Eingehen in die feineren histologischen Details, das eine ganz andere Wahl der Vergrösserungen für die Abbildungen bedingt hätte.

Wie schon erwähnt, stützte sich der auf Textfig. A, S. 182 abgebildete Klumpfuss beim Stehen und beim Gehen auf zwei Schwielenbildungen des Fussrückens. Die eine, mächtigere Stützfläche hat ihr kuppelförmig gewölbtes Zentrum über dem Talus, und flacht sich von da ziemlich jäh nach der proximalen und medialen Seite, viel allmählicher nach der distalen und besonders der lateralen Seite hin ab, wo sie sich erst am lateralen Fussrande allmählich verliert. Die grösste Dicke ihrer Hornschicht, die ich gemessen habe, betrug 2,5 mm. Als zweite Stützfläche diente dem Fuss die Schwielenbildung an den Rücken der fünften, vierten und dritten Zehe, die an der fünften und vierten Zehe gut, an der dritten Zehe nur schwach entwickelt ist. Diese drei Schwielenbildungen sind vom statischen Standpunkt aus als eine Einheit aufzufassen; sie sind von der Verschwielung über dem Talus beim Stehen durch das Gewölbe getrennt, das durch die scharfe Knickung im Chopartschen Gelenk entstanden ist (vgl. oben S. 183). Auch die kräftigeren Verschwielungen der fünften und vierten Zehe stehen in ihrer Mächtigkeit weit hinter der

Verschwielung des Talus zurück. Die grösste Dicke der Hornschicht, die ich z. B. über der Schwiele der vierten Zehe gemessen habe, betrug 1,1 mm.

In der beistehenden Textfig. D gebe ich einen Schnitt, der die Kuppel der letzteren Schwiele getroffen hat, bei 15 facher Vergrösserung. Dieser Schnitt zeigt auf den ersten Blick, dass Epithelleisten und Papillen nicht etwa entsprechend dem Maximum



Fig. D. Schnitt durch die Schwiele der vierten Zehe des Klumpfusses bei 15 facher Vergrösserung.

des Druckes, ausgedrückt durch die maximale Dicke der Hornschicht, abgeflacht sind, sondern umgekehrt, dass sie in der Kuppe der Schwiele, wo der Druck am stärksten, die Hornschicht am dicksten ist, eine sehr starke Entfaltung zeigen, die gegen die Peripherie hin sukzessive abnimmt und in der äussersten Peripherie in die normalen Verhältnisse der Haut des Fussrückens übergeht. Textfig. E stellt diese Verhältnisse an einem Schnitt durch die Kuppe der Talusschwiele bei derselben Vergrösserung dar. Entsprechend dem viel stärkeren Druck, der hier geherrscht hat und der aus der nahezu doppelt so grossen Dicke der Hornschicht ohne weiteres abzulesen ist, ist hier die Entwicklung des Epithelialleistensystems und mit ihm die Papillenhöhe ganz ausserordentlich viel bedeutender als in der Kuppe der Zehenschwiele. Wir können also aus diesen Befunden das Gesetz ableiten, dass mit der Stärke

des Druckes sowohl die Dicke der Hornschicht als auch die Entfaltung der Epithelleisten in die Tiefe nebst entsprechender Flächenentwicklung der Leisten (Bildung zahlreicher neuer Leisten) proportional zunimmt. Wir werden unten sehen, dass an der Sohle das Walten derselben Gesetzmässigkeit durch Vergleich von



Fig. E. Schnitt durch die Kuppe der Talusschwiele des Klumpfusses bei 15facher Vergrösserung.

funktionierenden mit nicht funktionierenden Sohlen (Klumpfuss) nachgewiesen werden kann.

Man könnte vielleicht auf den Gedanken kommen, dass es sich bei den Epithelbildungen von Textfig. D und E (vgl. auch

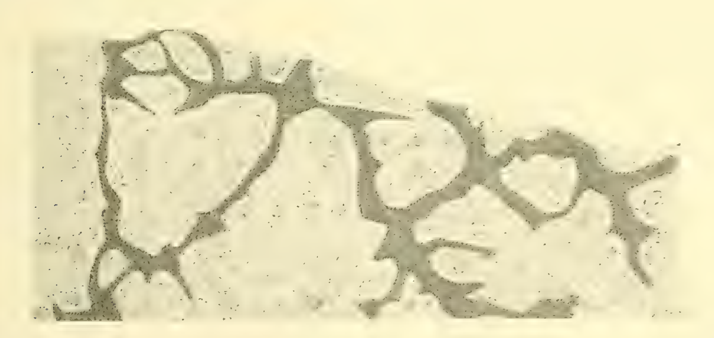


Fig. F. Flächenschnitt durch den Papillarkörper der Talusschwiele des Klumpfusses, aus dem sich der Leistencharakter der gegen das Corium gerichteten Epithelwucherung ersehen lässt. Vergr. 45.

Fig. X auf Taf. X) gar nicht um eine ungeheure Entwicklung des Leistensystems in der Fläche und Tiefe, sondern um ein durch den Druckreiz bedingtes Auswachsen zahlreicher Epithelzapfen in die Tiefe handle. Flächenschnitte durch den Papillarkörper einer Schwiele, besonders wenn sie die freien Enden der Epithelwucherung treffen, wie der in der Textfig. F wiedergegebene, lehren aber ohne weiteres, dass es sich nicht um Epithelzapfen sondern um ein System wirklicher Epithelleisten handelt, das freilich nicht nur ungeheuer viel höher, sondern auch sehr viel engmaschiger geworden ist als das Leistensystem des keiner Druckwirkung unterliegenden Fussrückens.

Wenden wir unsere Aufmerksamkeit von der Unterfläche des Epithels zu der Berührungsfläche zwischen unverhorntem Epithel (Rete Malpighi) und Hornschicht, so sehen wir (vgl. die Textfig. D und E), dass diese Fläche ein eigentümliches Relief besitzt, Berge und Täler bildet, wobei allerdings an Orten hochgradigerer Verschwielung, also besonders in der Kuppe der Schwiele über dem Talus den Faltungen dieser Berührungsfläche nicht mehr eine, sondern eine ganze Anzahl Leisten an der unteren Fläche des Epithels entspricht. Dies ist durch die starke sekundäre Vermehrung der Leisten an Stellen besonders hohen Druckes bedingt. Man findet dasselbe auch an den Fersen normaler Füsse beim erwachsenen Menschen, wie Fig. VIIIsl auf Taf. X zeigt. Das Auftreten solcher sekundärer Leistensysteme, die sich im Relief der Oberfläche des Rete nicht ausprägen, an den Sohlen erwachsener Menschen ist schon seit längerer Zeit bekannt und bedingt eine Komplikation der besonderem Druck ausgesetzten menschlichen Sohle im Gegensatz zu derjenigen der meisten Affen, wo sie meist ganz fehlt oder höchstens angedeutet ist (vgl. z. B. Schlaginhaufen [1905] und Heidenhain [1906].)

Auf Schnitten der Hornschicht der Schwielen, die von ausserordentlicher Härte und Festigkeit ist und dem unverhornten Epithel auf das festeste anhaftet, nehme ich bei geeigneten Doppelfärbungen eine ähnliche, freilich schwächer angedeutete Streifung wahr, wie wir sie an der Hornschicht der Sohle im Anschluss an Unna bereits besprochen haben und wie sie in den Textfiguren B, S. 185 angedeutet worden ist. Auf den Textfiguren D und E ist diese Streifung ebenfalls angedeutet. An Stellen stärkerer Verschwielung scheint diese besondere Differenzierung der Horn-

schicht stärker ausgesprochen zu sein als an Stellen schwächerer. Die Richtung der Streifung liegt stets in der Fortsetzung der Leisten, auch da, wo sie gegen die Oberfläche eine etwas schiefe Stellung besitzen. Ich begnüge mich mit diesen Andeutungen, da ich der Frage, die ein genaueres Studium nach Unnascher Methode bedarf, nicht hinreichend Zeit widmen konnte.

Ein ausgesprochenes Oberflächenrelief von einiger Regelmässigkeit nimmt man an den Schwielen bei äusserer Betrachtung mit dem blossen Auge oder der Lupe nicht wahr. Schnitte zeigen, dass immerhin eine leichte Wellung vorhanden ist, die den Wellen der Berührungsfläche zwischen verhorntem und unverhorntem Epithel entspricht (vgl. besonders Textfig. E).

Die Untersuchung der Schwielenbildungen auf dem Fussrücken des Klumpfusses hat ergeben, dass unter der Einwirkung eines starken, beständig wiederholten Druckes an der Haut des Fussrückens Veränderungen der gesamten Epidermis, nicht etwa bloss ihrer Hornschicht eintreten, die — natürlich abgesehen von der Regelmässigkeit der Leistenanordnung an der Sohle, die dort von Anfang an gegeben ist und nicht nachträglich am Fussrücken hergestellt werden kann — sonst für die Haut der Sohle und Hohlhand charakteristisch sind und sie von der Haut des Fussrückens und anderer Körperteile unterscheiden.

Ehe wir aus dieser Tatsache weitere Schlüsse ziehen, wollen wir nun die Frage untersuchen: Welche Veränderungen finden an der Haut der Sohle statt, wenn von derselben der starke und beständig wiederholte Druck dauernd ferngehalten wird, dem sie vom Ende des ersten Lebensjahres an beim Gehen und Stehen normalerweise ausgesetzt ist? Zum Teil haben wir diese Frage schon im vorigen Abschnitt bei der Beschreibung der Sohle des angeborenen Klumpfusses behandelt, aber wir haben dort mehr auf die Feststellung dessen geachtet, was an solchen Sohlen trotz des Fortfalles der Funktion erhalten bleibt, also was erblich determiniert ist, als auf das, was durch diesen Fortfall verändert wird.

Vergleichen wir die Hornschicht der Ferse des normalen Fusses einer 50 jährigen Frau mit der des Klumpfusses einer 59 jährigen Frau (vgl. Textfig. B_1 und B_2, S. 185), so finden wir die erstere nahezu dreimal so dick als die letztere. Die Dicke der Hornschicht im Fussgewölbe, dessen Kuppel auch beim

normalen Fuss keinem stärkeren Druck ausgesetzt ist, und wo also keine Verschiedenheit des Druckes im individuellen Leben vorhanden war, ist in beiden Fällen die gleiche. Nun hat uns aber die Untersuchung der Schwielenbildung am Fussrücken gelehrt, dass die Stärke einer Verschwielung sich nicht nur durch die Dicke der Hornschicht, sondern auch durch die Proliferation, besonders durch das in die Tiefe Wachsen der Reteleisten ausdrückt. Vergleichen wir die Reteleisten an der Ferse eines normalen erwachsenen Fusses mit denen an der Ferse eines Klumpfusses (Taf. X, Fig. VIII und IX), so sehen wir die letzteren

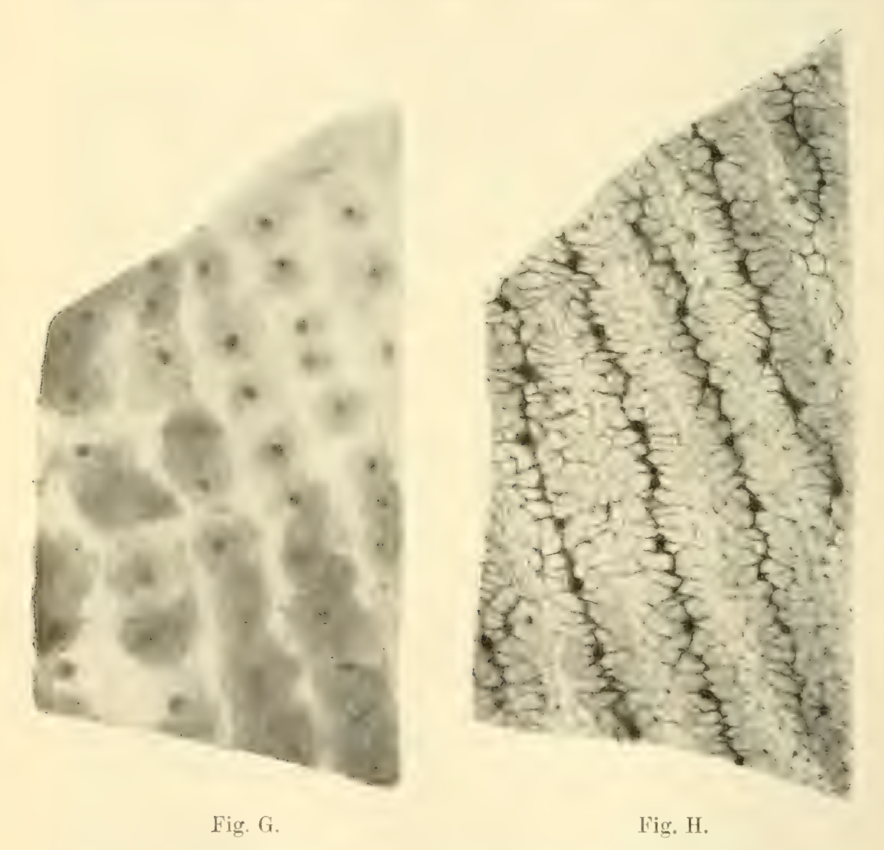


Fig. G. Fig. H.

Fig. G. Oberflächenansicht der isolierten Hornschicht von der Ferse des Klumpfusses über dunkelem Grund. Fig. H. Oberflächenansicht des epithelialen Leistensystems, welches von der in Fig. G dargestellten Hornschicht überlagert war, nach Entfernung dieser letzteren. Beide Figuren bei 13 facher Vergrösserung.

in allen ihren Dimensionen äusserst stark reduziert, was in vollem Einklang zu dem bei der Schwielenuntersuchung gewonnenen Ergebnis steht. Leidlich erhalten sind in der Sohlenhaut des Klumpfusses nur noch die Drüsenleisten.

Textfig. H zeigt das Leistensystem der Ferse des Klumpfusses, wie es im Oberflächenbild an einem gefärbten Präparat nach Entfernung der Hornschicht zutage tritt. Die Hornschicht, die über diesem Stück gelegen hat, ist in Textfig. G dargestellt. Auf dem die Leisten darstellenden Bild sehen wir die verhältnismässig leidliche Erhaltung der Drüsenleisten, an die sich seitlich schwächere Quer- und Längsleisten angliedern. Von typischen Faltenleisten kann man überhaupt nicht mehr sprechen. Die Falten sind verstrichen und es hat nicht nur eine Volumenverkleinerung, sondern auch eine Art Auflösung des zu den Falten gehörigen Leistensystems stattgefunden, welches in der Sohle des normalen Fusses eine so deutliche Ausprägung und grosse Regelmässigkeit besitzt.

An dem Epithel der Hautdecke können wir drei Flächen unterscheiden, die sich durch ein verschiedenartiges Relief auszeichnen: 1. die Grenzfläche gegen das Corium mit ihren in letzteres dringenden Leisten; 2. die Berührungsfläche von unverhorntem Epithel (Rete Mapighi) und von Hornschicht; 3. die freie Oberfläche der Hornschicht. Was die erstgenannte dieser Flächen anlangt, so ist ihr Relief an der Sohle des Klumpfusses durch den starken Schwund der in das Corium vorspringenden Leisten, den wir eben behandelt haben, naturgemäss sehr verflacht. An der Berührungsfläche von Rete und von Hornschicht ist durch den Schwund der Blaschkoschen Faltenleisten das Relief fast ganz verschwunden und die kleinen Einkerbungen, die man hie und da wahrnimmt, entsprechen nicht diesen Faltenleisten, sondern den Mündungen der Ausfuhrgänge der Schweissdrüsen, ihrem Übergang in die Schweissporen der Hornschicht. An dieser Stelle bildet auch an der normalen Sohle das unverhornte Epithel einen kleinen abgeflachten Krater, und diese Bildung erhält sich an der der Funktion entzogenen Sohle des Klumpfusses, während, wie wir gesehen haben, die Blaschkosche Falte, die die Hauptbildnerin des Reliefs dieser Fläche an der normalen funktionierenden Sohle sowie auch an der Sohle des Säuglings darstellt, so gut wie ganz schwindet. Durch das

Schwinden dieser Falte wird endlich ein beinah völliger Schwund des Reliefs an der freien Oberfläche des Klumpfusses bedingt. Die nahezu ebene Beschaffenheit dieser Fläche wird nur durch die kleinen Dellen unterbrochen, in deren Zentrum die Schweissporen nach aussen münden.

Ich möchte an dieser Stelle darauf aufmerksam machen, dass mit dem eben geschilderten Verlust des Reliefs bei dauerndem Ausfall der Funktion auch Dinge verloren gehen, die sowohl beim Fötus als auch beim Säugling angelegt und ausgebildet werden. Wie wir sahen, wird die Blaschkosche Faltenleiste schon früh im Fötalleben angelegt, in der 30. Woche bedingt ihre Faltenform bereits eine sehr charakteristische Reliefbildung an der Berührungsfläche des unverhornten und verhornten Epithels (Tafel VIII, Fig. III pl_2), und bei noch älteren Föten hat sich auf dieser Grundlage bereits ein typisches Relief der freien Oberfläche der Hornschicht gebildet (Taf. IX, Fig. IV pl). Auf der gleichen Grundlage bildet sich, nach Abstossung der im fötalen Leben gebildeten Hornschichten nach der Geburt, das gleiche Relief der freien Oberfläche der Hornschicht von neuem. So finde ich die Verhältnisse bei Säuglingen bis zum Beginn der Funktionen des Gehens und Stehens. Unter dem Einfluss dieser Funktionen vollzieht sich nun, wie ich durch Vergleich dieser Verhältnisse bei Kindern aus den ersten Lebensjahren mit älteren Kindern (4 und 7 Jahre) und Erwachsenen finde, eine ausgesprochene Steigerung der Reliefbildung. Wie nun die Verhältnisse am Klumpfuss uns lehren, bleibt die Reliefbildung bei Ausbleiben der Funktion nicht einfach auf der vor Einwirkung der individuellen Funktion erreichten Höhe stehen, sondern sie geht gegen das im Fötal- und Säuglingsleben Erreichte zurück. Ein Befund, den ich an einem Kind von 1 Jahr 7 Monaten gemacht habe, bei welchem wegen hochgradiger Schwäche Geh- und Stehversuche lebenslänglich fast ganz unterblieben waren, bestätigt dies. Die Blaschkoschen Falten befinden sich in diesem Falle bereits im Zustande ungewöhnlicher Abflachung, und das Relief der äusseren Oberfläche ist ausserordentlich viel niedriger als bei Säuglingen, die 1 Jahr jünger sind als dieses Kind. Das Aussenrelief ist also zwar eine erblich übermittelte Mitgift, zu seiner Erhaltung bedarf es aber von der Zeit an, in welcher normalerweise der funktionelle Reiz einzuwirken pflegt, der individuellen Einwirkung dieses Reizes, sonst geht die

auf Grund der erblichen Disposition entstandene Bildung wieder verloren.[1])

Wir haben zum Schluss noch zu untersuchen, ob sich in der Struktur der Hornschicht bei dauerndem Ausfall des normalerweise wirkenden Druckes Veränderungen bemerklich machen. Schon beim Abtasten zeigt es sich, dass die Hornschicht der Ferse, Ballen und Zehen des Klumpfusses nicht nur dünner, sondern auch weniger hart ist als die entsprechende normaler Füsse. Dass sie auch weniger widerstandsfähig ist als die absolut dünnere der Säuglinge, ergibt sich beim Anfertigen mikroskopischer Schnitte. Sie zerfällt beim Schneiden entschieden leichter in einzelne parallele Schichten als jene, ist aber dabei doch auch wieder viel widerstandsfähiger als die normale Hornschicht des Fussrückens und zeichnet sich vor letzterer auch durch gleichmässigere Schichtung aus. Was die von uns mehrfach (S. 177, 196) erwähnte Streifung der Hornschicht der Sohlen normaler Füsse anlangt, die bei Säuglingen und Erwachsenen sowohl bei Anwendung von gewissen Doppelfärbungen als auch bei entsprechender Behandlung mit Osmiumsäure so deutlich hervortritt und in der sich das ausdrückt, was Unna als polare Differenzierung der Hornschicht der Sohlenhaut bezeichnet, so nahm ich eine solche Streifung bei gleicher mikrochemischer Behandlung zunächst nicht wahr. Durch einen gleich zu besprechenden Befund bei Oberflächenbetrachtung vorsichtig gemacht, sah ich sie schliesslich doch, wenn ich stärkere Färbungen anwandte und vor allem die Beleuchtung von unten in hohem Grade abschwächte. Diese Differenzierung ist also immer noch vorhanden, aber viel weniger scharf ausgesprochen als an der normalen Sohle.

Eine genauere mikrochemische Untersuchung habe ich nicht angestellt, will aber noch etwas näher auf den Befund bei Oberflächenbetrachtung eingehen, der in verschiedener Beziehung lehrreich ist. Betrachtet man die Sohle des Klumpfusses mit blossem

[1]) Eine ähnliche Abhängigkeit der Ausbildung erblicher Anlagen von bestimmten äusseren Reizen und eine ähnliche Rückbildung von bereits Angelegtem bei völliger Ausschaltung der betreffenden Reize beobachten wir auch in anderen Fällen. So legt sich nach Kammerer (1912) im Auge des Olms, Proteus anguinus, zwar regelmässig eine Linse an, diese Anlage bildet sich aber bei dauerndem Fernbleiben aller Lichtreize wieder zurück, während sie zu voller Ausbildung gelangt, wenn man eine dauernde Belichtung des Auges zwangsweise durchführt.

Auge oder der Lupe, so nimmt man an ihr eine deutliche Streifung wahr, die topographisch ganz derjenigen entspricht, welche wir von den Sohlen normaler Füsse kennen und gewöhnlich (nicht sehr glücklich) als Papillarlinien bezeichnen. Beim normalen Fuss wie bei der normalen Hand sind dieselben ein Ausdruck des Reliefs der äusseren Haut. Ein solches Relief fehlt aber doch, wie wir gesehen haben, an der Sohle des Klumpfusses! Man könnte nun zunächst daran denken, dass das Bild der Streifung durch die unter der Hornschicht durchschimmernden Epithelleisten des Rete Malpighi hervorgerufen sein könnte.

Diese Möglichkeit wird ohne weiteres durch die Betrachtung der beiden in den Textfig. G und H (S. 198) dargestellten Präparate ausgeschlossen. Textfig. G gibt die abpräparierte Hornschicht wieder, die über dem unverhornten Teil der Haut gelegen hat. Das genau entsprechende Stück dieses letzteren ist nach Boraxkarminfärbung und bei starker Aufhellung in Textfig. H abgebildet. Die Streifung, die man bei Betrachtung der Sohlenhaut in situ wahrnimmt, ist dieselbe, die auf Textfig. G, dem Bilde der isolierten Hornschicht, zum Ausdruck kommt. Sie hat nicht das mindeste mit der Streifung von Textfig. H zu schaffen, die von total anderer Beschaffenheit ist und zudem nur an gefärbten Präparaten und bei entsprechender Aufhellung zutage tritt, in situ also gar nicht wahrgenommen werden kann.

Die Streifung der Hornschicht, wie wir sie in Textfig. G sehen, wird unsichtbar bei starker Aufhellung, weshalb ich ihre Beobachtung in Wasser vornahm und die Präparate nicht in Balsam, sondern in Glycerin konservierte. Nimmt man ein solches Präparat und hält es über einen schwarzen Grund, so erscheinen die Streifen, welche die Mündungen der Schweissdrüsenporen tragen, hell, die Zwischenstreifen dunkel; hält man es über einen hellen Hintergrund, wie dies bei der Zeichnung Textfig. G geschehen ist, so dreht sich dieses Verhältnis um. Die Drüsenstreifen erscheinen dunkel, die Zwischenstreifen hell. Daraus ergibt sich ohne weiteres, dass die Zwischenstreifen das Licht besser durchlassen als die Drüsenstreifen, dass sie durchsichtiger sind. Unnas „polare Differenzierung“ der Hornschicht der Sohle manifestiert sich also nicht nur in einer verschiedenen chemischen Zusammensetzung der Zellen, welche die Hauptmasse der Drüsenstreifen und der Zwischenstreifen bilden, sondern auch

in einem verschiedenen optischen Verhalten der beiden Arten von Streifen.

Oberflächenbilder, wie das in Textfig. G dargestellte, kann man auch von den Sohlenflächen vorgeschrittener Embryonen erhalten. besonders in der Zeit vor Auftreten eines ausgesprochenen Reliefs. (Durch ein solches kommt ein neues und deshalb verwirrendes Element in die Bilder.) Es erscheint mir beinahe als sicher, dass Whipple (1904, Textfig. 27, S. 309) solche durch die Struktur der Hornschicht bedingte Bilder bei älteren Embryonen vor sich gehabt hat. Natürlich dürfen dieselben, wie oben (S. 168) ausgeführt, nicht als Beweise für eine diskontinuierliche Entstehung der Reteleisten herangezogen werden.

Die Hauptergebnisse der im vorliegenden Abschnitt mitgeteilten Untersuchungen können wir kurz in folgenden Sätzen zusammenfassen. Bei starkem und andauerndem Druck auf Hautstellen, die normalerweise keinem solchen Druck ausgesetzt sind, (z. B. Fussrücken), vollzieht sich eine Annäherung der Hautstruktur an die Strukturverhältnisse in Sohle und Hohlhand. Bei Fortfall des normal beim Stehen und Gehen auf die Sohle ausgeübten Druckes vollzieht sich umgekehrt eine Annäherung ihrer Hautstruktur an die Verhältnisse, wie wir sie z. B. am Fussrücken finden; und zwar betrifft diese Annäherung alle Struktureigentümlichkeiten und erstreckt sich nur nicht auf die Anordnung der primären Reteleisten (Drüsenleisten), während die sekundären Reteleisten (Faltenleisten) einer teilweisen Rückbildung und Auflösung anheimfallen. Wir können auch sagen: jeder fortgesetzte Druck, ganz gleich ob er Sohle und Hohlhand oder andere normalerweise nicht einem solchen Druck ausgesetzte Hautstellen trifft, bewirkt eine mit seiner Stärke zunehmende Verschwielung, die sich ausdrückt, erstens in einer Verdickung und eigenartiger Differenzierung der Hornschicht, zweitens in einer entsprechend starken Tiefenentwicklung der Leisten des Rete Malpighi sowie einer Vermehrung der Zahl dieser Leisten. In genau entgegengesetztem Sinne wirkt der Fortfall des normalerweise auf die Fußsohle wirkenden Druckes. Bemerkenswert ist in diesem Falle ferner das Schwinden des bereits auf Grund erblicher Disposition gebildeten Reliefs und das Schwächerwerden der streifigen Differenzierung (polare Differenzierung Unnas) der Hornschicht.

Schluss.

Wir haben gefunden, dass die Verschwielung mit allen ihren charakteristischen Eigentümlichkeiten während des individuellen Lebens von der Stärke des häufig auf die Haut ausgeübten Druckes abhängig ist, proportional mit diesem steigt und fällt. Dies gilt genau so für die Sohle und die Hohlhand wie für alle übrigen Teile der Haut. Übt man durch vieles Rudern einen besonderen Druck auf die Ballen des zweiten bis fünften Fingers aus, so nimmt dort an bestimmten Stellen die Verschwielung zu; spielt man sehr viel Klavier, so verstärkt sie sich an der Spitze der Fingerbeeren, macht man häufige und grosse Fusstouren, so wächst sie an der Ferse, den Ballen (besonders dem Grosszehenballen) und den Zehenbeeren. Aber schon das gewöhnliche Stehen und Gehen, wie es das tägliche Leben mit sich bringt, genügt, um einen Zustand der Verschwielung unserer Sohle und Zehen hervorzurufen, der in seiner topographischen Abstufung genau der Abstufung des die verschiedenen Punkte verschieden stark treffenden Druckes entspricht. Wir haben also die Abstufung in der Verschwielung der Sohle als das Produkt der verschieden starken funktionellen Beeinflussung aufzufassen.

Wenn nun, wie wir gesehen haben, eine ganz entsprechende und nur in ihren Proportionen abgeschwächte Abstufung in der Verschwielung ontogenetisch bereits vor Einwirkung der Funktion auftritt und sich bei dauerndem Ausbleiben des normalen Druckes (Klumpfuss) abgeschwächt bis in das späte Lebensalter erhält, so ist dies ein Fall, in welchem man mit dem höchsten Grade von Wahrscheinlichkeit auf die Vererbung eines lediglich durch die Funktion herausgebildeten Komplexes von Charakteren schliessen kann, ein Fall, der gerade deshalb so beweisend ist, weil die feinen, rein graduellen Unterschiede der Funktionswirkung sich so getreulich in den graduellen Unterschieden der erblichen Verschwielungsdispositionen widerspiegeln.

Dass hier der von Weismann mit Vorliebe vorgebrachte Zuchtwahleinwand nicht stichhaltig ist, liegt auf der Hand. Denn vom Standpunkt der Nützlichkeit, also des Selektionswertes aus, sind diese Dispositionen zumal in ihrer feinen Abstufung bedeutungslos. Auch ohne sie würde sich, wie besonders meine Untersuchung der funktionellen Schwielen des Fussrückens gelehrt hat, lediglich durch die individuelle Funktionswirkung derselbe

Zustand herstellen, wie wir ihn beim gehenden Menschen realisiert finden. Notwendig ist nur, dass zur Zeit der ersten Gehversuche die Haut der Sohle eine Stärke der Hornschicht besitzt, die dem Maximum der an sie gestellten Ansprüche genügt. Die Ausbildung aller der mit der späteren funktionellen Inanspruchnahme korrespondierenden Abstufungen schon vor Beginn der Funktion lässt sich also vom Nützlichkeitsstandpunkt aus nicht erklären. Dies ist daher ein Fall, in dem wie bei der erblichen Disposition mancher Pflanzen, ihre Schlafbewegungen in einem 12 : 12stündigen Rhythmus auszuführen, die Bedeutungslosigkeit der erblichen Disposition es unmöglich macht, ihren Erwerb auf Zuchtwahl zurückzuführen (vgl. meine diesbezüglichen Ausführungen 1912, S. 21).

Man könnte gegen die hier vertretene Auffassung ferner noch einwenden, es sei eine altbekannte Tatsache, dass sich Organe ontogenetisch, bevor sie in Gebrauch genommen würden, schon fix und fertig anlegten und die hier von mir geschilderten Befunde sagten im Grunde nichts Neues. Auch jedes Gelenk erhielte ontogenetisch, noch bevor es funktioniere, eine Ausbildung, die dem späteren Zustand im wesentlichen entspräche. Wenn man also annähme, dass die Gelenke stammesgeschichtlich rein funktionell entstanden seien, so könne man aus dieser längst bekannten Tatsache einen Beweis für Vererbung funktioneller Vererbungen ebensogut herauslesen, wie aus meinen hier mitgeteilten Befunden. Dasselbe gelte für den Nagel, den Huf und zahlreiche andere Organe, die schon vor Beginn ihrer Funktion in der Ontogenese gebrauchsfertig angelegt würden.

Hier ist aber ein wichtiger Unterschied übersehen. Aus der frühen ontogenetischen Anlage eines Gelenks lässt sich ein strikter Beweis für die Vererbung funktioneller Erwerbungen deshalb nicht führen, weil die Annahme der rein funktionellen Ausbildung der Gelenke in der Stammesgeschichte sich durchaus nicht mit Sicherheit beweisen lässt. Die vergleichende Anatomie lehrt uns, dass die phylogenetische Entwicklung unserer Gelenke bis auf die Amphibien, zum Teil bis auf die Fische zurückgeht und jedes Gelenk also eine ungeheuer lange stammesgeschichtliche Entwicklung hinter sich hat. Wenn nun auch bei derselben meiner Ansicht nach funktionelle Einflüsse die Hauptrolle gespielt haben (im Gegensatz zu manchen gelenkartigen Bildungen anderer Ge-

schöpfe, z. B. der Insekten), so ist es doch sehr wohl möglich, dass während dieser langen geschichtlichen Entwicklung auch andere Faktoren eine Rolle gespielt haben, vor allem die Auslese unter Mutationen, die auf Grund anderer, nicht gerade funktioneller Einwirkungen aufgetreten sein können, die aber zufällig Selektionswert besassen. Ob diese Annahme sehr wahrscheinlich ist, will ich hier nicht erörtern. Sie lässt sich aber jedenfalls nicht ohne weiteres ausschliessen, und deshalb ist dieser Fall kein reiner, und ist als strenger Beweis für die Vererbung einer funktionellen Einwirkung bis auf weiteres ungeeignet. Ganz ähnlich liegen die Dinge beim Nagel oder beim Huf.

Durchaus verschieden aber liegen die Dinge in unserem Falle, bei dem jene Zweifel ganz fortfallen. Die Geschichte der Erwerbung ist in diesem Falle eine verhältnismässig kurze und leicht zu übersehende, weil die Abstufungen, wie sie uns vorliegen, auf den Menschen beschränkt sind und mit dessen aufrechtem Gange und der in seinem Gefolge auftretenden Ausbildung eines Fussgewölbes zusammenhängen. Eine ausgeprägte Gewölbstruktur fehlt auch dem Fusse der anthropoiden Affen. Besonders wichtig ist es, dass in unserem Falle die Möglichkeit ganz fortfällt, die Auslese unter Mutationen von anderweitiger, nicht funktioneller Provenienz habe dabei eine Rolle gespielt. Denn wie wir gesehen haben, kann von einem Selektionswert dieser Abstufung der Dispositionen keine Rede sein. Die Dinge liegen also nicht etwa so, dass sich die Bedeutung dieses einfach und klar liegenden Falles durch den Hinweis auf jene viel verwickelter liegenden des Gelenks, des Nagels oder Hufs erschüttern lässt, sondern umgekehrt so, dass der einfachere und reinere Fall Schlüsse zu ziehen gestattet, welche nicht den Einwänden unterliegen, die man bei jenen machen könnte.

Wer ohne Vorurteil an die uns beschäftigende Frage herantritt, wird mir, wie ich glaube, Recht geben, wenn ich behaupte, dass hier der Beweis für die erbliche Fixierung einer funktionellen Erwerbung im Laufe langer Zeiträume und zahlreicher Generationen soweit geführt ist, wie er sich auf nicht experimentellem Wege überhaupt führen lässt. Die experimentelle Behandlung der Frage nach der Vererbung rein funktioneller Erwerbungen hat mit der besonderen Schwierigkeit zu kämpfen, dass bei der Schwäche gerade der funktionellen Erregungen ausserordentlich lange Zeit-

räume und entsprechend lange Generationsreihen erforderlich sind, um einen merklichen Ausschlag zu erzielen. Bisher liegen, wie ich in meiner zusammenfassenden Behandlung des ganzen Problems (1912, S. 165) ausgeführt habe, erst ganz schwache und unzureichende, weil viel zu kurz bemessene Ansätze zur experimentellen Behandlung dieser Unterfrage vor. Dagegen hat das Experimentieren mit stärkeren äusseren Reizen, das in viel kürzeren Zeiträumen schon deutliche Ausschläge zu erzielen vermag, bereits eine grosse Anzahl positiver Ergebnisse geliefert. Geduld, passende Auswahl der Objekte und Verfeinerung in der Ablesung der Ausschläge wird aber früher oder später auch diese Lücke ausfüllen.

Ich habe mich in der vorliegenden Arbeit darauf beschränkt, die menschliche Sohle einer näheren Untersuchung zu unterziehen, und diese Untersuchungen haben zu einer vollständigen Widerlegung der von Shattock aufgestellten Behauptungen (s. oben S. 165) geführt, die sich in bezug auf die Vergleichung von Hohlhand und Fußsohle mit der Rückenhaut dieser Extremitäten auf ein ganz unzureichendes Beobachtungsmaterial stützen. Ebenso unzulänglich ist Shattocks Beobachtungsmaterial aber auch in bezug auf anderweitige Schwielenbildungen (Sternal- und Extremitätenschwielen beim Kamel, Carpalschwielen bei der Giraffe). Ich habe das bereits früher (1912, S. 29—31) auseinandergesetzt und hatte ursprünglich die Absicht, in der vorliegenden Arbeit, die die Verschwielung der Sohle zum Thema hat, darauf näher einzugehen. Ich halte dies aber nunmehr für überflüssig, da aus meinen Untersuchungen zu deutlich hervorgeht, wie nichtssagend der Befund der Untersuchung eines einzelnen beliebig herausgerissenen Stadiums ist, selbst wenn diese Untersuchung viel eingehender und vollständiger wäre als diejenige Shattocks bei Macacus. Ich halte es für sicher, dass wenn beispielsweise die Schwielenbildungen beim Kamel in ihren verschiedenen Phasen wirklich anatomisch untersucht werden würden (Shattock hat anatomisch nur ein einziges Stadium beim Kamel untersucht, bei dem er übrigens die Gegend der späteren Sternalschwiele durch die Ausbildung eines ansehnlichen subkutanen Fettpolsters vorbezeichnet fand), dass dann eine solche Untersuchung die erbliche Disposition für die Schwielenbildungen ebenso deutlich, wenn auch in ganz anderen Stadien der Ontogenese erweisen würde, wie es für die Schwielenbildung bei Phacochoerus durch die Untersuchung von Leche (1902) geschehen

ist. Die Führung dieses Nachweises hat die Beschaffung entsprechenden Untersuchungsmaterials zur Vorbedingung und muss deshalb späterer Forschung vorbehalten werden. Das Endergebnis unserer an einem, wie ich glaube, ausreichenden Material vorgenommenen Studien über die Verschwielungsverhältnisse der menschlichen Sohle und die Schwielenbildung beim Menschen überhaupt, fasse ich in den Sätzen zusammen,

1. dass ein vollkommener Parallelismus besteht zwischen der Wirkung der Funktion im individuellen Leben einerseits und der präfunktionellen, erblich bedingten Verschwielung andererseits;
2. dass sich dieser Parallelismus in diesem Falle in keiner Weise auf Parallelinduktion im Weismannschen Sinne zurückführen lässt, weil die betreffenden Druckreize wohl die Sohle in verschiedenen Abstufungen treffen können, unmöglich aber die „Determinanten" der Keimzellen ohne Vermittlung der Sohle in denselben Abstufungen;
3. dass in diesem Falle auch die Ausbildung dieser erblichen Dispositionen durch Auslese unter ohne Beziehung zur Funktion aufgetretenen Mutationen vollkommen ausgeschlossen werden kann.

Literaturverzeichnis.

Albinus, B. S.: Accademicarum annotationum, L. I, Leiden 1754, S. 27.

Derselbe: Accademicarum annotationum, L. V, Leiden 1761.

Blaschko, A.: Zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Oberhaut. Arch. f. Phys., Jahrg. 1884, S. 173—175.

Derselbe: Beiträge zur Anatomie der Oberhaut. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 30, 1887.

Darwin, Ch.: The Descent of Man and Selection in Relation to Sex. London 1871. Übersetzung nach der zweiten englischen Ausgabe, Stuttgart 1875, 1. Bd., S. 42.

Cedercreutz, A.: Über die Verhornung der Epidermis beim menschlichen Embryo. Arch. f. Dermat. u. Syphilis, 84. Bd., 1907, S. 173—178.

Ernst, P.: Studien über normale Vorhornung mit Hilfe der Gramschen Methode. Arch. f. mikr. Anat., 47. Bd., 1896, S. 683.

Golodetz und Unna: Zur Chemie der Haut IV. Monatshefte f. prakt. Dermat., Bd. 49, 1909.

Haller, A. v.: Elementa physiologiae corporis humani, 5. Bd., 1763, S. 15.

Heidenhain, M.: Über die gegenseitige Entsprechung von Epidermis und Coriumleisten an der Beugefläche von Hand und Fuss beim Affen und Menschen. Anat. Hefte von Merkel und Bonnet, 30. Bd., I. Abt., 1906. S. 421—431.

Kammerer, P.: Experimente über Fortpflanzung, Farbe, Augen und Körperreduktion bei Proteus anguinus Laur. (III. Mitteil. über Vererb. erzwungener Farbveränderungen.) Arch. f. Entwicklungsmeth. 33. Bd., 1912.

Kölliker, A.: Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 1. Bd., Leipzig 1889.

Kollmann, A.: Der Tastapparat der Hand der menschlichen Rassen und der Affen. Hamburg und Leipzig 1883.

Krause, R.: Beiträge zur Kenntnis der Haut der Affen. Inaug.-Dissert., Berlin 1888.

Leche, W.: Ein Fall von Vererbung erworbener Eigenschaften. Biol. Zentralbl., 22. Bd., 1902.

Loewy, J.: Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Oberhaut. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 37, 1891.

Schlaginhaufen, O.: Das Hautleistensystem der Primatenplanta unter Mitberücksichtigung der Palma. Morph. Jahrb., I. Teil, Bd. 33, 1905, II. Teil, Bd. 34, 1905.

Semon, R.: Das Problem der Vererbung „erworbener Eigenschaften“. Leipzig, W. Engelmann, 1912.

Shattock, S. G.: Lamarckism and Callosities. Proceed. R. Soc. of Med., Vol. IV, London 1911.

Unna, P. G.: Die Fortschritte der Hautanatomie in den letzten 5 Jahren. Monatshefte f. prakt. Dermat., Bd. VII, Nr. 16, 1888, S. 762—770.

Derselbe: Über die Zusammensetzung und die Bedeutung der Hornsubstanzen. Klinischer Vortrag, Medizinische Klinik, Bd. 4 b, 1908, S. 1277—1281.

Derselbe: Über Verhornung. Klinischer Vortrag, Medizinische Klinik, 5. Jahrg., 1909, S. 1727—1730.

Whipple, L. Inez: The ventral surface of the Mammalian Chiridium. Zeitschr. f. Morph. u. Anthrop., Bd. VII, 1904.

Wolff, J.: Über die Ursachen, das Wesen und die Behandlung des Klumpfusses. Berlin 1903.

Zander, R.: Untersuchungen über den Verhornungsprozess. II. Mitteilung. Der Bau der menschlichen Epidermis. Arch. f. Anat. u. Entwicklungsgeschichte, Jahrg. 1888.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel VIII—X.

Alle Figuren sind bei 80facher Vergrösserung gezeichnet.

dl = Drüsenleiste.
dr = Schweissdrüse.
fl = Faltenleiste.
h = Hornschicht.
ql = Querleiste.
p = Periderm.
sl = Sekundäre Leiste (beim Erwachsenen).

Tafel VIII.

Fig. I. Fötus 11 cm craniocaudal (etwa 15. Woche).

Fig. I pl1. Oberflächenansicht der eben entstehenden Drüsenleisten der Ferse.

Fig. I pl2. Querschnitt durch die Drüsenleisten der Ferse.

Fig. I pl3. Querschnitt durch die schon etwas weiter entwickelten Drüsenleisten der Grosszehenbeere.

Fig. I drs. Schnitt durch die Haut des Fussrückens.

Fig. II. Fötus 13 cm craniocaudal (etwa 17. Woche).

Fig. II pl1. Oberflächenansicht der Fersenhaut. Die Drüsenleisten tragen Drüsenbesatz. Erste Andeutung der Faltenleisten.

Fig. II pl2. Längsschnitt durch eine Drüsenleiste der Ferse.

Fig. II pl3. Querschnitt durch die Drüsenleisten und die eben als minimale Vorwölbung sichtbar werdenden Faltenleisten.

Fig. II drs. Schnitt durch die Haut des Fussrückens.

Fig. III. Fötus 26 cm craniocaudal (etwa 30. Woche).

Fig. III pl1. Oberflächenansicht der Fersenhaut, Faltenleisten jetzt deutlich ausgesprochen; Querleisten soeben gebildet.

Fig. III pl2. Querschnitt durch Drüsenleisten und Faltenleisten der Ferse.

Fig. III drs1. Oberflächenansicht der Haut des Fussrückens. Die bei ihrem ersten Auftreten unverbundenen Schweissdrüsen des Fussrückens werden nunmehr durch allerdings nur schwach angedeutete Epithelleisten untereinander verbunden.

Tafel IX.

Fig. IV. Geburtsreifer Fötus 37 cm craniocaudal (durch Kaiserschnitt extrahiert).

Fig. IV pl. Schnitt durch die Fersenhaut, Längsleisten quer getroffen.

Fig. IV drs. Schnitt durch die Haut des Fussrückens.

Fig. V. Neugeborenes, 30 Stunden nach der Geburt. Die bisher gebildete Hornschicht zum Teil bereits abgestossen, zum Teil in Abstossung begriffen.

Fig. V pl. Schnitt durch die Fersenhaut, Längsleisten quer getroffen.

Fig. V drs. Schnitt durch die Haut des Fussrückens.

Fig. VI. Säugling von 26 Tagen.

Fig. VI pl. Schnitt durch Fersenhaut, Längsleisten quer getroffen. Es hat sich bereits eine neue, für die Sohle typische Hornschicht gebildet.

Fig. VI drs. Schnitt durch die Haut des Fussrückens.

Fig. VII. Säugling von 3 Monaten.

Fig. VII pl. Schnitt durch die Fersenhaut, Längsleisten quer getroffen.

Fig. VII drs. Schnitt durch die Haut des Fussrückens.

Tafel X.

Fig. VIII. Schnitt durch das Epithel der Fersenhaut eines 45jährigen Mannes senkrecht zur Richtung der Längsleisten. Wie man sieht, haben sich zwischen den Drüsenleisten und Faltenleisten sekundäre Leisten (sl) entwickelt. Hornschicht nicht mitgezeichnet (vgl. darüber Textfig. B_1, S. 185).

Fig. IX. Schnitt durch das Epithel der Fersenhaut des Klumpfusses. Hornschicht nicht mitgezeichnet (vgl. darüber Textfig. B_2, S. 185, sowie über die Leisten Textfig. H, S. 198).

Fig. X. Schnitt durch das Hautepithel mit seinen Leisten bei einer funktionellen Schwiele: Kuppe der Talusschwiele des Klumpfusses. Hornschicht nicht mitgezeichnet (vgl. darüber Textfig. E, S. 195).

Berichtigung.

In Band 82, Heft 2, Abt. II, Seite 75, Zeile 25 ff., wird durch Fehlen eines Kommas der Sinn in das Gegenteil entstellt. Es muss heissen:

Tritt im normalen Verlauf der Reifeteilungen bei der betreffenden Tierart eine Reduktion ein, so muss das Tier, das schon in den Somazellen haploide Kerne hat, entweder, (was wenig wahrscheinlich ist), unter Änderung des Reifungsmodus die Reduktion ausfallen lassen oder es wird nicht geschlechtsreif.

Literarisch-kritische Rundschau.

Plate, L.: Vererbungslehre mit besonderer Berücksichtigung des Menschen, für Studierende, Ärzte und Züchter. Mit 179 Figuren etc. Leipzig. Verlag von Wilhelm Engelmann. 1913. Preis geheftet M. 18.—, gebunden M. 19.—.

Nachdem der Befruchtungsprozess und die Reifevorgänge während der Oo- und Spermiogenese im Tierreich und Pflanzenreich durch bahnbrechende Entdeckungen festgestellt worden sind, nachdem ferner durch die grundlegenden Untersuchungen von Mendel und seinen zahlreichen Nachfolgern ein weites Arbeitsfeld auch für die experimentelle Forschung eröffnet worden ist, hat das Studium der Vererbungslehre einen unerwarteten und vielverheissenden Aufschwung in dem letzten Decenium erfahren. Durch Veröffentlichung zahlreicher und zum Teil sehr umfangreicher Experimente ist ein ganz neuer Zweig der biologischen Literatur entstanden. Das ihm von vielen Seiten zugewandte Interesse hat auch darin seinen Ausdruck gefunden, dass in zwei Jahren nicht weniger als vier umfangreiche Bücher erschienen sind, in denen eine Zusammenfassung der Forschungsergebnisse in lehrbuchmässiger Darstellung gegeben wird, die vortrefflichen Lehrbücher von Bateson und Baur, von Haecker und Goldschmidt. Die beiden ersten lassen mehr die Errungenschaften auf botanischem, die beiden anderen auf tierischem Gebiet in den Vordergrund treten. Ihnen schliesst sich in diesem Jahre ein neues Werk über die Vererbungslehre von Ludwig Plate, Professor der Zoologie in Jena, an. Es bildet den zweiten Band einer Sammlung von Handbüchern der Abstammungslehre, welche in W. Engelmanns grossem Verlag jetzt zu erscheinen beginnen. Wie auch andere Veröffentlichungen von Plate, empfiehlt es sich durch seine leicht verständliche Darstellungsweise und durch die Ausstattung mit zahlreichen, gut ausgewählten Abbildungen, deren Zahl sich auf 179 beläuft. Während in dem Lehrbuch von Haecker (vergleiche die Besprechung desselben in diesem Archiv Bd. LXXVII, II. Abt., S. 315) die cytologischen Ergebnisse eine breitere Darstellung gefunden haben, hat Plate mehr die experimentelle Forschung in den Vordergrund gestellt. Ein unterscheidendes Merkmal den anderen Lehrbüchern gegenüber ist aber besonders darin zu suchen, dass Plate in verschiedenen Abschnitten die Beziehungen der neuen Errungenschaften der Vererbungslehre zu der Abstammungs- und Selectionstheorie ausführlicher erörtert. Das umfangreiche Forschungsmaterial wird in übersichtlicher und zweckentsprechender Weise in 10 Kapiteln besprochen. Im ersten finden sich die allgemeinen Tatsachen über Erblichkeit, Nichterblichkeit, Variabilität und Selektion, im zweiten die Vererbungsregeln bei einem Merkmalspaar, im dritten die Vererbungsregeln bei Polyhybriden dargestellt. Das vierte Kapitel handelt von den Abweichungen von der typischen alternativen Vererbung und das fünfte von der Vererbung des Geschlechts und geschlechtsabhängiger Merkmale. Der Vererbung beim Menschen ist das siebente Kapitel ausschliesslich bestimmt. Die vier letzten Kapitel sind einer Reihe mehr allgemeiner, zum Teil hypothetischer Fragen: Kapitel VII den theoretischen Problemen der Vererbungslehre, Kapitel VIII dem Mendelismus und der Abstammungslehre, Kapitel IX der praktischen Bedeutung des Mendelismus und der Faktorentheorie für die Tier- und Pflanzenzucht gewidmet. H.



Über das Verhalten des plastomatischen Bestandteiles des Spermiums bei der Befruchtung des Eies von Phallusia mamillata.

Von

Friedrich Meves, Kiel.

Hierzu Tafel XI—XIV und 7 Textfiguren.

Inhalt.

I. Einleitung.

Bei einem Versuch, eine Beteiligung der männlichen plastosomatischen Substanz bei der Befruchtung des Seeigeleies nachzuweisen, war ich (1912) zu dem überraschenden Resultat gekommen, dass das sogenannte Mittelstück, welches die plastosomatische Substanz des Echinidenspermiums in sich vereinigt, unverändert in eine der beiden ersten Blastomeren hineingelangt. Diese Konstatierung scheint auf den ersten Blick zu der von mir vertretenen Anschauung, nach welcher die Plastosomen (Chondriosomen) erbliche Eigenschaften übertragen, in Widerspruch zu stehen. Jedoch ist bekannt, dass bei der Umwandlung des Pluteus in das fertige Tier zahlreiche Teile des Larvenkörpers abgestossen oder resorbiert werden; und es ist meines Erachtens die Möglichkeit einstweilen

nicht von der Hand zu weisen, dass die Substanz des Mittelstückes ausschliesslich denjenigen Zellen reserviert wird, welche in die Anlage des jungen Seeigels übergehen.

Vordem ich die Weiterverfolgung des Mittelstückes bei der Furchung des Echinideneies in Angriff nahm, lag mir daran, eine Aussaat männlicher Plastochondrien, wie ich sie bei Ascaris beobachtet hatte, wenn möglich, noch in einem anderen Fall aufzufinden.

Auf meine Bitte gewährte mir das preussische Kultusministerium für das Frühjahr 1912 einen Arbeitsplatz in der Zoologischen Station in Neapel. Meinen dortigen Aufenthalt benutzte ich unter anderem dazu, um mit freundlicher Unterstützung von Herrn Dr. Cerruti, dem ich dafür besten Dank schulde, Material über die Befruchtung einer Ascidie, Phallusia mamillata, zu sammeln. Einige Figuren, welche Hill (1896) gegeben hatte, waren die Veranlassung gewesen, dass ich beschlossen hatte, mich mit dem Befruchtungsvorgang bei diesem Tier zu beschäftigen. Im folgenden werde ich zunächst über meine Untersuchungsresultate bei Phallusia berichten und alsdann auf eine Anzahl Kritiken antworten, welche an meinen Ascarisbefunden (1911) und an derjenigen Anschauung geübt sind, nach welcher wir in den Plastosomen protoplasmatische Vererbungsträger zu sehen haben.

II. Untersuchungsmethode.

Phallusia mamillata ist hermaphroditisch und kann man von einem einzigen Tier zugleich reifen Samen und Eier (durch Anstechen der Ausführungsgänge der Geschlechtsdrüsen mit einer Nadel) gewinnen; jedoch habe ich bei Selbstbefruchtung, welche ich einige Male ausgeführt habe, keine Resultate erzielt.[1])

Von dem Moment der Befruchtung an bis zum Eintritt der ersten Furchungsteilung verflossen im Minimum ca. $1^{1}/_{4}$ Stunden.

Für die Untersuchung habe ich wiederum die Altmannsche Methode benutzt, welcher ich mich bereits bei zwei früheren Arbeiten (1911, 1912) zum Studium der Befruchtung bei Ascaris und Echinus mit Erfolg bedient habe. Die Eier wurden also, verschieden lange Zeit nach der Besamung, auf 24 Stunden in das Altmannsche Gemisch (2 proz. Osmiumsäure und 5 proz. Kaliumbichromatlösung zu gleichen Teilen) hineingebracht und

[1]) Vgl. dagegen Peter (1909, S. 205).

dann, nach gründlichem Auswaschen mit destilliertem Wasser, in allmählich steigenden Alkohol bis zu 80 prozentigen übertragen, in welchem sie bis zu meiner Rückkehr nach Kiel verblieben.

Gerne würde ich auch noch andere Fixierungsmittel angewandt haben, welche für das Studium der Kernverhältnisse und der im Laufe der Befruchtung auftretenden achromatischen Strukturen günstiger gewesen wären; ich habe jedoch wegen der Schwierigkeiten, Material in genügender Menge zu erhalten, davon absehen müssen.

Nach Hause zurückgekehrt, habe ich dann die Eier vollständig entwässert und durch Xylol in Paraffin übergeführt, wobei ich sie in der früher (1912, S. 85) angegebenen Weise in Gelatinehülsen von rechteckigem Querschnitt gesammelt habe.

Die 4—5 μ dicken Schnitte machten zunächst die Vorbehandlung nach Rubaschkin (1910) durch und wurden dann mit Säurefuchsin-Pikrinsäure nach Altmann gefärbt.

Bei der Untersuchung zeigte es sich nun leider, dass es mir an geeignetem Material aus der Zeit von 35—45 Minuten nach der Befruchtung fehlte. Ich besass zwei grössere Eiportionen, von welchen die eine 30, die andere 50 Minuten nach der Besamung abgetötet war; aus der Zeit dazwischen jedoch nur eine einzige Portion (von 40 Minuten), deren Entwicklung sich aus mir unbekannter Ursache stark verzögert hatte. Herr Dr. Cerruti hat sich dann auf meine Bitte liebenswürdigerweise bemüht, mir das fehlende Zwischenstadium zu verschaffen, hat aber die Ausführungsgänge der Geschlechtsdrüsen im Herbst und Winter 1912 bei wiederholten Untersuchungen leer gefunden. Um so mehr war ich erfreut, als es mir schliesslich selbst gelang, die vorhandene Lücke teilweise dadurch zu überbrücken, dass ich in den beiden Portionen von 30 bezw. 50 Minuten eine grössere Anzahl Eier auffinden konnte, welche in der Entwicklung entweder den übrigen vorausgeeilt oder hinter ihnen zurückgeblieben waren. —

In Anbetracht des Zweckes meiner Untersuchung durfte ich es nicht unterlassen, auch den Bau der freien Spermien mit besonderer Berücksichtigung ihres plastosomatischen Bestandteiles zu studieren. Ich habe mir daher in Neapel Spermienausstrichpräparate hergestellt, welche ich grösstenteils mit Osmiumsäure fixiert und hinterher mit Fuchsin nach Altmann oder mit Eisen-

hämatoxylin nach M. Heidenhain gefärbt habe; andere Präparate wurden mit Sublimat fixiert und nach Ehrlich-Biondi tingiert. Schliesslich habe ich noch während eines kurzen Aufenthalts auf der schwedischen Zoologischen Station Kristineberg, wo ich im Herbst 1912 bei Herrn Dr. Östergren freundliche Aufnahme fand, die Gelegenheit wahrgenommen, um in gleicher Weise die Spermien einer anderen, dort vorkommenden Phallusiaart (wahrscheinlich Phallusia aspersa) zu untersuchen, welche sich von denjenigen von Phallusia mamillata nicht in erkennbarer Weise unterscheiden.

III. Bau der Spermien mit besonderer Berücksichtigung ihres plastosomatischen Bestandteiles.

Die Spermien von Phallusia bestehen aus einem Kopf und einem verhältnismässig kurzen Schwanz, welcher mit einem feinen, deutlich abgesetzten Endstück versehen ist. Zwischen Kopf und Schwanz ist ein kleines Körnchen eingeschaltet, das Ballowitz (1894) zuerst bei Ciona gesehen hat und welches offenbar zentriolärer Natur ist (vgl. auch Retzius [1904, S. 15]). Der Kopf ist ein schmaler, vorn und hinten zugespitzter Stab, dessen mittlerer Teil an Spermien, welche (wie diejenigen von Fig. 1) mit Osmiumsäure fixiert und mit Fuchsin nach Altmann gefärbt worden sind (ebenso übrigens bei Sublimatfixierung und Färbung nach Ehrlich-Biondi) intensiv rot erscheint. Diese Rotfärbung wird durch eine röhrenförmige Scheide bedingt, welche den mittleren Teil des Kopfes umgibt und welche offenbar plastosomatischer Natur ist (Fig. 1a). Die Scheide erscheint in zahlreichen Fällen gegen das vordere oder hintere Kopfende verschoben; ihre Enden sind vielfach schief abgeschnitten.

In Fig. 1b ist die Scheide auf einem optischen Längsschnitt dargestellt. Auf einem solchen erscheint sie nicht selten an verschiedenen Stellen verschieden dick; in Fig. 1c ist sie an der linken Seite oben und unten dicker, in der Mitte dünner; an der rechten Seite dagegen in der Mitte verdickt, nach den Enden zu dünner. Auf dieses Bild werde ich später zurückkommen.

Zuweilen (Fig. 1d) kann man bei Einstellung auf die Längsachse des Spermienkopfes die Scheide nur auf der einen (in Fig. 1d linken) Seite, beim Heben und Senken der Mikrometerschraube jedoch auch noch oberhalb und unterhalb des Kopfes wahrnehmen, so dass sie in diesen Fällen also wohl eine Art Halbröhre bildet.

Wenn man ein Ausstrichpräparat von frischen Spermien vor der Fixierung kurze Zeit in der Luft hin und her schwenkt, bis die Ränder der Spermaschicht angetrocknet sind, so konstatiert man fast regelmässig, dass die Samenfädenköpfe in diesen eingetrockneten Randpartien mehr oder weniger stark aufgeschwollen sind. Diese Schwellung scheint seltsamerweise in erster Linie die plastosomatische Scheide betroffen zu haben, welche sich auf das vier- bis fünffache ihres normalen Durchmessers verbreitern kann (Fig. 1e—g).

In denselben Ausstrichpräparaten, in denen die bisher beschriebenen Kopfformen vorkommen, findet man mitunter andere, welche das in Fig. 1h—l wiedergegebene Aussehen zeigen. An Stelle der röhrenförmigen plastosomatischen Scheide ist ein Spiralband vorhanden, welches in einer verschieden grossen Anzahl von Windungen (ca. 1 1/2—3 1/2) um den Kopf herumgelegt ist. In den Figuren, in denen das vordere Kopfende nach oben gerichtet ist, steigen die Windungen der Spirale auf der dem Beschauer zugekehrten Kopfseite von unten und rechts nach oben und links an. Durch diese Bilder wird, wie mir scheint, die Annahme nahe gelegt, dass die plastosomatische Scheide ihre Entstehung aus einem Spiralband nimmt, vielleicht in der Weise, dass die Windungen desselben sich verbreitern und der Länge nach untereinander verkleben; das Aussehen, welches die Scheide der Fig. 1c auf dem optischen Längsschnitt darbietet, könnte dahin zu deuten sein, dass sie in diesem Fall im Begriff steht, sich aus einem Spiralband zu bilden, welches in ca. 1 1/2 Windungen um den Kopf herumgelegt ist.

Nicht selten kommen Spermien vor, bei denen die Länge des Spiralbandes nur eine Windung oder weniger als eine solche beträgt (Fig. 1m), und andere, bei denen die plastosomatische Substanz die Form eines Stäbchens hat, dessen Längsachse mit derjenigen des Kopfes einen spitzen Winkel bildet (Fig. 1n) oder auch parallel derselben liegt (Fig. 1o). Das Stäbchen ist zuweilen in der Mitte verdickt, an den Enden dagegen zugespitzt; und schliesslich findet man, mitunter in zahlreichen Fällen, an Stelle des Stäbchens ein Kügelchen, welches an der Seite des Kopfes gelegen ist. Der Kopf erscheint dann fast regelmässig bogig gekrümmt; das Kügelchen wird stets an der konkaven Seite desselben angetroffen (Fig. 1g—s).

Es erhebt sich nun die Frage, ob die zuletzt beschriebenen Bilder (Fig. 1m—s) verschiedenen Stadien in der Entwicklung der plastosomatischen Scheide entsprechen oder ob sich vielleicht ein zuerst vorhanden gewesenes Spiralband unter der Wirkung der Fixierung verkürzt und dabei vom Spermienkopf abgewickelt hat. Ich habe lange Zeit das letztere für das Wahrscheinlichere gehalten; jedoch ist es schwierig, ohne Untersuchung der Spermiogenese eine bestimmte Entscheidung zu treffen. Jedenfalls scheinen mir Spermien mit den zuletzt beschriebenen Kopfformen von der Befruchtung ausgeschlossen zu sein.

Bemerkenswert ist, dass die plastosomatische Substanz, auch wenn sie in Form eines Kügelchens neben dem Kopf liegt, sich niemals von diesem ablöst. In vielen Fällen (z. B. Fig. 1s) erkennt man deutlich, dass die Verbindung zwischen beiden durch umhüllendes Cytoplasma aufrecht erhalten wird. Auf Grund derartiger Bilder darf wohl geschlossen werden, dass die plastosomatische Scheide mitsamt dem Kopf oder wenigstens einem Teil des letzteren an sämtlichen Spermien noch von einer Cytoplasmahülle umgeben ist.

Literatur. Die Spermien von Phallusia scheinen bisher noch wenig studiert zu sein. Ballowitz (1894, S. 251) fand bei einer Phallusiaart, die er auf Helgoland untersuchte, längliche, stäbchenförmige Köpfe; diese waren meist noch von einem Protoplasmarest umgeben und schienen ihm noch nicht ganz ausgereift zu sein.

Hill (1896, S. 321) sagt von den Spermien von Phallusia mamillata, dass sie aus den „gewöhnlichen drei Teilen“. Kopf, Mittelstück und Schwanz zusammengesetzt seien. Er bezieht sich dafür auf ein in das Ei eingedrungenes Spermium, dessen Kopf sich bereits stark verkürzt und verdickt hat. Was er als Mittelstück bezeichnet, ist anscheinend derjenige mittlere Teil des Kopfes, welcher von der plastosomatischen Scheide umgeben ist; sein Centrosom („at the end of the middle piece“) ist wohl nichts anderes als der von dieser Scheide freie hintere Kopfteil.

Dagegen sind die Spermien einer anderen Ascidie, Ciona intestinalis, durch die Untersuchungen von Ballowitz und Retzius bereits genauer bekannt geworden.

Die Schilderung von Ballowitz (1894, S. 250), soweit sie sich auf den Kopf bezieht, lautet folgendermassen: „Der sehr kleine Kopf ist von der Fläche gesehen länglich elliptisch, bisweilen mehr rundlich und zeigt bei gewisser Einstellung einen hellen dellenartigen Fleck, der an die Delle der roten Blutkörperchen der Säugetiere erinnert. Dass hier in der Tat ein Eindruck besteht, zeigt die Kantenansicht, bei welcher der Kopf halbmondförmig oder kommaartig gebogen erscheint. Die eine Fläche des abgeplatteten Kopfes ist mithin konvex, die andere konkav. Der die Konkavität begrenzende Rand scheint dünner zu sein als der Teil des Kopfes, welcher der konvexen Fläche entspricht; wenigstens erkläre ich mir so die Erscheinung, dass an tingierten Deckglastrockenpräparaten der konvexe Rand des Kopfes dunkler gefärbt und ziemlich scharf begrenzt hervortritt." Ballowitz erwähnt ferner noch am Kopf die Existenz eines kurzen stiftartigen Spitzenstückes.

Im Gegensatz dazu beschreibt Retzius (1904, S. 15), dass der Spermienkopf bei Ciona vielmehr „schmal lanzettförmig" ist, „und zwar nicht nur von einer, sondern auch von den übrigen Seiten gesehen"; dabei ist er bald gerade, bald nach einer Seite hin umgebogen. Seitlich sitzt ihm als konstanter Bestandteil ein kugeliges oder ovales Gebilde an, das im ungefärbten Zustande ganz hell und durchsichtig ist, in Rosanilin sich aber intensiv rot färbt. „In der Regel sitzt dieses Gebilde ungefähr an der Mitte der Kopflänge und schmiegt sich mehr oder weniger eng an den Kopf an Bisweilen hat es ungefähr zwei Drittel der Länge, gewöhnlich aber nur die Hälfte oder noch weniger. Wenn der Kopf gebogen ist, befindet sich der Seitenkörper stets an seiner Konkavität, so dass es den Anschein hat, als hätte sich der Kopf um diesen Körper gekrümmt. Es kommen auch Fälle vor, wo der Seitenkörper der Spitze des Kopfes nahe gerückt ist oder sich auch nahe seinem hinteren Ende befindet. Der Seitenkörper hängt dem Kopfe sehr innig an; nur in sehr seltenen Fällen war er in den Streichpräparaten, die doch eine verhältnismässig nicht so gelinde mechanische Behandlung erfahren hatten, vom Kopf abgefallen."

„Aus der Beschreibung von Ballowitz geht deutlich hervor, dass er diesen Körper für eine Aushöhlung (einen „Eindruck") genommen hat, die „an die Delle der roten Blutkörperchen der Säugetiere erinnert"; nur an einer seiner Figuren hat diese Delle die Form des fraglichen Körpers, aber gerade diese Figur führt Ballowitz selbst als Beweis für den ‚Eindruck' an."

„Meiner Ansicht nach entspricht nun dieser eigentümliche Körper den am Hinterende des Kopfes der Polychaeten konstant belegenen färbbaren Körnern, deren Substanz sich aber hier zu einem einzigen grösseren Kern vereinigt hat."

Nach der Darstellung von Retzius zeigt die plastosomatische Substanz an den Spermien von Ciona demnach eine Anordnung, welche bei den Phallusiaspermien zwar ebenfalls vorkommt, hier aber wohl entweder auf Unreife oder auf Wirkung der Fixierung zu beziehen ist.

IV. Protoplasmastruktur der reifen Eier.

Von dem Ascidienei ist bekannt, dass es eine ausgesprochene Polarität besitzt; man pflegt an ihm einen oberen oder animalen Pol, an welchem die Bildung der Richtungskörper erfolgt, und einen entgegengesetzten unteren oder vegetativen Pol zu unterscheiden, an welchem das Spermium eindringt (Fig. a).

Der Körper der Eizelle ist dicht erfüllt von Dotterkügelchen, zwischen denen vereinzelte nach der Altmannschen Methode



Fig a. Schnitt durch ein Ei von Phallusia mamillata, 10 Minuten nach der Besamung, mit Richtungsspindel am oberen Pol und mit eingedrungenem Spermienkopf links vom unteren Pol.

intensiv rot färbbare Körner, Mitochondrien oder Plastochondrien, gelegen sind. Am unteren Pol des befruchteten Eies findet sich

eine dichte Anhäufung solcher Körner in Gestalt einer kuppenförmigen Masse, welche in der Regel an der oberen und unteren Seite unregelmässige grubige Vertiefungen zeigt: dementsprechend weist die obere und untere Begrenzung dieser Ansammlung auf einem durch die Eiachse gelegten Schnitt einen eigentümlich gewundenen Verlauf auf. Bis an die obere Seite reichen die Dotterkörner unmittelbar heran; die Buchten der unteren Seite dagegen werden von einer gewöhnlich etwas dunkler gefärbten, protoplasmatischen Grundsubstanz ausgefüllt, welche weder Dotterkügelchen noch überhaupt Einschlüsse irgendwelcher Art enthält.

Die Plastochondrien sind etwas verschieden gross und erscheinen zum Teil auf dem optischen Durchschnitt ringförmig; d. h. es sind Bläschen, welche aus einer färbbaren Schale und hellem Inhalte bestehen (sog. „Ringkörner"). Letzteres gilt besonders für die mehr vereinzelt liegenden, welche zugleich häufig mehr länglich oval sind.

Schliesslich ist noch zu bemerken, dass die Grundsubstanz des Protoplasmas an vielen Präparaten, aber nicht an allen, eine sehr feine Vakuolisierung erkennen lässt, welche in meinen Figuren nicht mitgezeichnet ist.

Literatur. Die Existenz von Plastochondrien in den Ovarialeiern von Ascidien ist bereits von L. und R. Zoja (1891), Bluntschli (1904), Frl. Loyez (1909), Schaxel (1911) festgestellt worden. Plastochondrien von Bläschenform hat Frl. Loyez beobachtet und mit der Bildung der Dotterkügelchen in Zusammenhang gebracht.

Die Anhäufung von Plastochondrien am unteren Pol des befruchteten Ascidieneies ist ebenfalls schon von früheren Autoren, meines Wissens zuerst von Castle (1896) bei Ciona, als Kappe von feinkörnigem Protoplasma beschrieben worden. Sie entspricht ferner dem „cap of yellow protoplasm", welches Conklin (1905, 1—3) am lebenden Ei von Cynthia beobachtet hat. Am reifen Ovarialei dieses Tieres findet Conklin eine oberflächliche Protoplasmaschicht, welche gelbliche Pigmentkörnchen in gleichmässiger Verteilung aufweist. Unmittelbar nach dem Eindringen des Spermatozoons strömt das gelb gefärbte Plasma, wie er beschreibt, nach dem unteren vegetativen Pol ab, wo es sich zu einer Kappe ansammelt. Darüber lagert sich zur selben Zeit

eine Schicht von hellem Protoplasma, welches bei der Auflösung des Keimbläschens aus letzterem frei geworden ist. Der ganze übrige Teil des Eies ist schiefergrau von Farbe und von Dotterkügelchen erfüllt. Diese drei verschiedenen Protoplasmaarten, welche sämtlich in letzter Linie vom Kern des Eies abstammen sollen, stehen nach Conklin als ebensoviele „organbildende Substanzen" zu den verschiedenen Organen und Geweben des Embryos in genetischer Beziehung.

Driesch (1905, S. 661) hat demgegenüber hervorgehoben, dass das Ei von Phallusia im lebenden Zustand „glashell ist und nichts von den verschiedenen Stoffen Conklins erkennen lässt". Conklin hat dies bei einer Nachuntersuchung (1911) bestätigt gefunden, hat aber konstatiert, dass das Phallusiaei, fixiert und gefärbt, die gleichen fundamentalen Differenzierungen wie die Eier anderer Ascidien aufweist. „Just as in the cases of Ciona and Cynthia, a cap of protoplasm which stains deeply with eosin gathers at the vegetative pole immediately after the entrance of the spermatozoon into the egg . . . ." (l. c. S. 402).

Wenn Conklin die Substanz dieser Protoplasmakuppe bei Phallusia an einer anderen Stelle (S. 394) derselben Abhandlung (1911) als „non-granular, homogeneous" bezeichnet, so ist dieses Aussehen offenbar auf die von ihm angewandte Technik zurückzuführen. Ich kann ferner am Phallusiaei von der Existenz eines „hellen Protoplasmas", welches der Plastosomenkappe angelagert eine besondere mittlere Schicht bildet, wie Conklin es für Cynthia beschreibt, bei Phallusia während der ersten $^{3}/_{4}$ Stunden nach der Besamung nichts wahrnehmen. Dagegen entsteht später oberhalb des vegetativen Pols ein ausgedehnter von Dotterkügelchen freier Bezirk in der Umgebung der beiden Vorkerne und der Teilungsfigur durch Vergrösserung des „hellen Hofes", in welchem Anfangs der Spermakopf gelegen ist. Dieses „helle Protoplasma" ist aber nicht aus dem Keimbläschen frei geworden, wie Conklin annimmt, sondern ist weiter nichts als die Grundsubstanz des Eies, aus welcher die Dotterkügelchen verdrängt sind. Es verdient auch sicher nicht die Bezeichnung einer organbildenden Substanz, welche Conklin ihr beilegt. Auch auf die Plastosomen scheint mir dieser Ausdruck nicht anwendbar [1])

[1]) Im Gegensatz zu dem, was ich früher (1908, Seite 849) ausgesprochen habe.

zu sein, obwohl die letzteren als materielles Substrat für alle möglichen Differenzierungen bei der Formbildung eine hervorragende Rolle spielen.

Nach den Ergebnissen der Entwicklungsmechanik kann wohl nicht bezweifelt werden, dass bei bestimmten Tieren die substantiellen Anlagen für einzelne Teile des Embryo in bestimmten Bezirken des Eiprotoplasmas lokalisiert sind. Vom descriptiv zytologischen Standpunkt aber erscheint es mir einstweilen unmöglich, besondere „organbildende Substanzen" zu unterscheiden.[1])

V. Verhalten des plastosomatischen Bestandteiles des Spermiums bei der Befruchtung.

Das Spermium dringt, wie gesagt, am unteren oder vegetativen Pol (oder in dessen Nähe) in das Ei ein. Man findet es hier einige Zeit nach dem Spermazusatz gewöhnlich dicht unter der Oberfläche in einer grösseren hellen Bucht, welche die an diesem Pol angesammelte Plastochondrienmasse an ihrer unteren Seite aufweist. Der Schwanzfaden des Spermiums wird nicht abgeworfen, sondern mit in das Ei aufgenommen. Der Kopf führt meistens eine Drehung aus, wie sie schon bei zahlreichen Tieren beobachtet wurde, in der Weise, dass er seine Spitze gegen die Peripherie, das hintere Ende gegen den Mittelpunkt des Eies kehrt. Diese Drehung ist in den Fig. 2 und 4 schon vollzogen, wie man an der Lage des noch erhaltenen Schwanzfadens erkennt (zwischen seinem vorderen Ende und dem hinteren Ende des Kopfes ist bereits eine Lücke aufgetreten).

Nach vollzogener Drehung pflegt der Spermienkopf seine Lage im Ei wenig zu verändern. Erst gegen Ende der ersten halben Stunde nach der Besamung senkt er sich tiefer in den Eikörper ein, wobei er von einem „hellen Hof" umgeben bleibt; in letzterem ist inzwischen ein Spermozentrum im Mittelpunkt einer Strahlung deutlich geworden.

Wenn man nun den Kopf des eingedrungenen Spermiums in den Fig. 2 bis 4 mit demjenigen des freien in Fig. 1a vergleicht, so kann man zunächst konstatieren, dass er sich verkürzt und verdickt hat. In Fig. 2 und 4 ist sein vorderes (in den Figuren oberes) Ende zu einem Bläschen angeschwollen, welchem ein kleines

[1]) Jedoch mag es sein, dass die Plastosomen bei einigen Tieren schon frühzeitig anfangen, sich in bestimmter Richtung zu spezifizieren.

in der Achse des Spermienkopfes gelegenes Körnchen ansitzt; letzteres dürfte dem von Ballowitz bei Ciona erwähnten Spitzenstück oder Perforatorium entsprechen. In Fig. 3 liess das linke und zugleich untere Ende des Kopfes eine gleiche Beschaffenheit erkennen; daraus geht hervor, dass die Drehung des Spermienkopfes in diesem Fall bisher ausgeblieben ist.

Was nun die plastosomatische Substanz anlangt, so zeigt der mittlere Teil des Kopfes an der Stelle der Scheide kurze Zeit nach der Besamung rotgefärbte Querstreifen (Fig. 2—4), deren Zahl sich meistens auf drei beläuft; es kommen aber auch vier und andererseits auch nur zwei solche Querstreifen vor; ausnahmsweise habe ich nur einen einzigen beobachtet.

Da diese Querstreifen nicht selten etwas schräg zur Längsachse verlaufen, habe ich zuerst geglaubt, dass sie der Ausdruck eines den Spermienkopf umgebenden Spiralbandes seien, wie ich es in Ausstrichpräparaten von Spermien häufig beobachten konnte. Diese Vermutung habe ich aber nicht bestätigt gefunden. Dann habe ich daran gedacht, dass es Bruchstücke eines solchen Spiralbandes seien. Schliesslich bin ich aber zu der Überzeugung gekommen, dass es sich in den meisten Fällen um in sich zurücklaufende Ringe handelt, welche um den Spermienkopf herumgelegt sind; zuweilen mögen sie allerdings nicht völlig geschlossen sein.

Der Spermienkopf quillt weiterhin immer stärker auf und wird dabei zunächst perlschnurförmig; an den Einschnürungsstellen liegen die plastosomatischen Ringe, die augenscheinlich eine festere Konsistenz besitzen und selbst unbeteiligt an der Aufquellung sind (Fig. 5, 6). Der Spermienkopf der Fig. 6 zeigt an der einen Einschnürungsstelle (unten rechts) zwei Ringe dicht nebeneinander. Bei Betrachtung der Fig. 5 und 6 fällt auf, dass die eine von beiden kugeligen Anschwellungen, die an den Enden des Kopfes liegen, wie halbiert erscheint; ob sie dem vorderen oder hinteren Ende desselben entspricht, vermag ich nicht zu entscheiden.

Im weiteren Verlauf der Aufquellung nimmt der Spermienkopf rasch an Dicke zu und nähert sich in seiner Form mehr und mehr einem kurzen Zylinder, dessen Enden rein quer abgeschnitten erscheinen (Fig. 7—10). Die aus plastosomatischer Substanz bestehenden Ringe werden dabei immer stärker gedehnt, bedingen jedoch noch längere Zeit hindurch Schnürfurchen an der Oberfläche des Zylinders. Man vergleiche Fig. 9 und 10. In Fig. 9 ist nur

ein einziger Ring vorhanden, welcher bei hoher Einstellung gezeichnet ist. Fig. 8 zeigt einen Spermienkopf, bei welchem die Plastosomenringe am unteren Ende der Ausdehnung stärkeren Widerstand als am oberen entgegengesetzt haben; daraus hat eine Kegelform des ganzen Kopfes resultiert.

Indem der Kopf sich zu einem Zylinder umwandelt, wird in der Achse des Zylinders ein blasser stabförmiger Körper sichtbar, welcher die gleiche Länge wie dieser hat (Fig. 9 und 10); das gleiche Gebilde ist übrigens schon in Fig. 6 (in den oberen zwei Dritteln des Kopfes) zu erkennen. Um was handelt es sich hier? Meines Erachtens unterliegt es nicht dem geringsten Zweifel, dass die Aufquellung zunächst hauptsächlich die den Kopf umgebende zytoplasmatische Umhüllung betrifft (vergl. oben S. 220); der Stab im Inneren ist der eigentliche Kopf oder der Kernanteil des Kopfes. Durch das Vorhandensein dieses augenscheinlich etwas festeren Stabes wird wohl die eigentümliche Form, welche der quellende Kopf als ganzes zeigt, mitbedingt.

Die Dehnung der plastosomatischen Ringe macht in der Folge weitere Fortschritte. Die Schnürfurchen verstreichen; das Seitenprofil des Kopfes erscheint jetzt als gerade Linie. Die Ringe sind nach Art von Tonnenreifen um den zylindrischen Kopf herumgelegt (Fig. 12—15). Es bedarf nunmehr eines stärkeren Wechsels der Einstellung, um sie bei Seitenansicht des Kopfes in ganzer Länge verfolgen zu können. In Fig. 12 und 14 sind die ganzen Reifen in Längsansichten von Spermienköpfen, also bei stark wechselnder Einstellung, eingezeichnet. Die Achse des zylinderförmigen Kopfes liegt jedoch in beiden Fällen der Ebene des Objekttisches nicht genau parallel, sondern etwas schräg zu ihr: in Fig. 12 ist das untere, in Fig. 14 das obere Ende des Kopfes höher gelegen. Fig. 11, ein optischer Querschnitt durch einen Spermienkopf senkrecht zur Längsachse desselben, ist bei Einstellung auf einen der vorhandenen Reifen gezeichnet; dieser Reifen ist, wie man wahrnimmt, nicht kontinuierlich, sondern zeigt an zwei Stellen Unterbrechungen, wie sie auf diesen Stadien auch sonst (man vergleiche die Längsansichten) häufig zu konstatieren sind. Fig. 13 ist wieder ein Kopf in Längsansicht, welcher bei Einstellung auf die Längsachse wiedergegeben ist; man sieht den Seitenkonturen des Kopfes rotgefärbte Körnchen, die optischen Querschnitte der Reifen, ansitzen. Ein ähnliches Bild bietet Fig. 15; jedoch sind

hier auch die unteren Hälften der Reifen noch blassrot mitgezeichnet.

Die Endflächen des Zylinders, welche früher quer abgeschnitten erschienen, springen nunmehr meistens konvex vor.

Der anfangs stabförmige Kern im Innern des Kopfes hat sich verkürzt und eine länglich ovale Form angenommen. Auch auf diesen vorgerückteren Stadien ist er keineswegs immer zu erkennen. Am besten pflegt man ihn an optischen Querschnitten durch den Kopf wahrzunehmen, an denen er als ein rundliches Scheibchen erscheint (Fig. 11).

Auf dem nächsten sich anschliessenden Stadium, welches ich in meinen Präparaten auffinden konnte, liegt der Spermienkopf dicht neben dem Strahlungszentrum (Fig. 16), welches inzwischen angefangen hat, sich als dunkler Fleck innerhalb des grösser werdenden hellen Hofes deutlicher zu markieren[1]; gleich darauf (Fig. 17) ist er wieder etwas von diesem abgerückt. Die den Kopf umgebende zytoplasmatische Hülle ist zwar anscheinend noch vorhanden, dagegen sind die sie umfassenden, rot färbbaren Reifen verschwunden. Infolge davon ist der Kopf nunmehr in meinen Altmann-Präparaten, besonders nachdem er sich wieder vom Strahlungszentrum entfernt hat, sehr schwer zu entdecken.

Was ist nun aus den plastosomatischen Reifen geworden? Eine direkte Verfolgung ihrer Substanz über das Stadium der Fig. 14, 15 hinaus ist mir leider nicht möglich gewesen, da es mir gerade hierfür an Material fehlte. Auch von dem in Fig. 16 gezeichneten Stadium besass ich nur verhältnismässig wenige Eier, welche sich in den zwei oben erwähnten Eiportionen fanden, von denen die eine 30, die andere 50 Minuten nach der Befruchtung fixiert war. Ich kann also die Frage nach dem Verbleib der männlichen Plastosomensubstanz durch direkte Beobachtung nicht entscheiden und muss daher notgedrungen an Stelle der letzteren eine theoretische Betrachtung treten lassen.

An und für sich bestehen folgende zwei Möglichkeiten: Die männliche Plastosomensubstanz könnte sich (entweder an Ort und Stelle an der Oberfläche des Spermienkopfes oder nachdem sie in den Eikörper übergetreten ist) gelöst haben, oder aber sie könnte als solche im Eikörper persistieren. Für welche von beiden Möglichkeiten sollen wir uns entscheiden?

[1]) In der Mitte des Strahlungszentrums ist in Fig. 16 ein Zentriol erkennbar.

Sicher ist, dass die plastosomatische Substanz des Spermiums eine Bedeutung irgend welcher Art besitzen muss; denn anderenfalls würde sie am Ende der Spermiogenese mit den übrigen Zytoplasmateilen abgestossen werden. Würde sie nun einen Bestandteil des Spermiums bilden, welcher als Bewegungsorgan oder als Perforatorium für dieses diente und welcher seine Rolle nach dem Eindringen des Spermiums ausgespielt hätte, so wäre es durchaus verständlich, wenn sie im Ei keine weitere Verwendung erführe, sondern einfach resorbiert würde. Wir haben jedoch keinen Anhalt dafür, dass ihr, direkt oder indirekt, motorische oder mechanische Funktion zukommt. Ihre sehr verschiedene Lokalisierung an den Samenfäden verschiedener Tiere scheint mir entschieden dagegen zu sprechen und vielmehr darauf hinzudeuten, dass sie erst im Ei in Funktion treten soll.

Im Ei aber kann die plastosomatische Substanz keine nebensächliche Rolle spielen, sondern muss notwendigerweise eine nachhaltige Wirkung irgendwelcher Art ausüben; denn ein für das Ei bestimmter Stoff, den der Samenfaden hineintransportiert, kann nicht mehr oder weniger gleichgültig für dieses sein.

Es liegt nun nahe, anzunehmen, dass in Gestalt der plastosomatischen Substanz ein spezifischer chemischer Stoff eingeführt werde, welcher die Entwicklung anregen soll. Demgegenüber kann man aber darauf hinweisen, dass das (plastosomatische) Mittelstück des Echinidenspermiums unverändert in eine der beiden Blastomeren übergeht.

Alles, was wir von der plastosomatischen Substanz bisher wissen, scheint mir ausserdem darauf hinzudeuten, dass sie ein primitives d. h. undifferenziertes, neutrales Protoplasma darstellt; ihr Vorhandensein am Spermium und ihre Überführung in das Ei ist mir alsdann nur verständlich, wenn sie zugleich einen protoplasmatischen Erbstoff repräsentiert.

Nun gibt es ja allerdings zahlreiche Autoren, welche die Vererbung auf Chemismus beruhen lassen, welche es demnach von ihrem Standpunkt aus nicht überraschend finden würden, wenn die protoplasmatische Erbsubstanz in Lösung ginge. Ich bin demgegenüber der Meinung, für deren Begründung ich den Leser auf Hensen (1881, S. 126, 1885, S. 731—732 und S. 745, 1911, S. 380—384, 1912, S. 263) und Naegeli (1884, S. 109—111 und S. 216—218) verweise, dass es sich bei der Vererbung um

einen „morphologischen, durch geformte Substanzen getragenen Vorgang“ (Hensen 1911, S. 384) handelt. Die Plastosomen stellen nach meiner Ansicht eine Substanz dar, welche Sitz der spezifischen zu vererbenden Protoplasmastruktur ist; oder, anders ausgedrückt, eine Substanz, an welche die bei der Vererbung zu übertragende Form, soweit sie sich im Protoplasma und nicht eventuell auch im Kern lokalisiert findet, gebunden ist. Daraus geht hervor, dass diese Substanz bei der Befruchtung ihre morphologische Kontinuität bewahren muss.

Ich glaube daher nicht fehlzugehen, wenn ich annehme, dass bei der Befruchtung des Phallusiaeies die Substanz der plastosomatischen Ringe sich von der Oberfläche des Spermienkopfes ablöst, in den Eikörper übertritt und hier in irgend einer Form persistiert. Ich erinnere daran, dass bei Ascaris eine Aussaat männlicher Plastochondrien jedenfalls mit Sicherheit konstatiert ist. Ihre Persistenz kann auch bei Ascaris, wie ich Retzius gern zugebe (siehe unten S. 235), nicht als sicher bewiesen gelten, wenn sie auch von mir nicht im allermindesten bezweifelt wird.

Im Phallusiaei beobachtet man nun aber eine Erscheinung, welche möglicherweise auf eine Persistenz der männlichen Plastosomensubstanz zu beziehen sein könnte.

Unmittelbar nachdem die Reifen des Spermienkopfes verschwunden sind, findet man innerhalb des das Spermozentrum umgebenden hellen Hofes einmal rotgefärbte Körner, welche meistens die Grösse von Eiplastochondrien haben und grösstenteils sicher auch solche sind, die von der Peripherie her eingedrungen sind; dazwischen liegen kurze feine Stäbchen, die zuerst nicht sehr zahlreich sind, aber weiterhin rasch an Zahl zunehmen (Fig. 16—18). Sie färben sich nach der Altmannschen Methode ebenso wie die Plastochondrien, wenn sie auch infolge ihrer Feinheit bei dem Differenzierungsverfahren die Rotfärbung sehr leicht abgeben; jedoch sehe ich meinerseits keinen Grund, weshalb ich an ihrer plastosomatischen Natur zweifeln sollte. Sie sind meistens radiär zum Spermozentrum gelegen, zwischen den Radien der Strahlung, die etwa von diesem Zeitpunkt an auch an meinen Altmann-Präparaten deutlicher hervorzutreten beginnt.

Woher stammen nun diese Stäbchen? Es ist möglich, dass sie zum Teil durch eine Umformung von Eiplastochondrien entstehen, nachdem diese sich in kleinere Körner zerlegt haben.

Da aber ihr erstes Auftreten mit demjenigen Moment zusammenfällt, zu welchem die plastosomatischen Reifen als solche verschwunden sind, so darf man wohl jedenfalls daran denken, dass sie sich zum anderen Teil von diesen, sei es direkt, sei es durch das Zwischenstadium von Körnern, ableiten. Ich brauche wohl nicht nochmals hervorzuheben, dass es sich hierbei nur um eine Vermutung handelt.

Es ist nun von Interesse, das Verhalten dieser Stäbchen auf den anschliessenden Stadien bis zur ersten Furchungsteilung zu verfolgen.

Bei Betrachtung von Fig. 17 kann man bereits konstatieren, dass der im Zentrum der Spermastrahlung gelegene dunkle Fleck sich erheblich vergrössert hat. In der Folge wird er noch grösser und es wird eine hellere Mitte und eine dunklere Randzone an ihm unterscheidbar. Der Kern verliert seine zytoplasmatische Hülle, bleibt aber anfangs noch so klein, dass er auch jetzt noch — wenigstens an meinen Altmann-Präparaten — schwierig aufzufinden ist. Er behält zunächst noch eine längliche Form und liegt gewöhnlich mit seiner Längsachse radiär zum Strahlungszentrum (in Fig. 18 ist diese radiäre Lagerung wenig ausgesprochen). Weiter (Fig. 19, 20) nimmt auch er rasch an Grösse zu; dabei kann er vorübergehend ein mehr oder weniger stark lappiges Aussehen zeigen (z. B. Fig. 19). In Fig. 20 ist er schon stark herangewachsen.

Die feinen plastosomatischen Stäbchen haben inzwischen an Zahl zugenommen und sich zugleich mehr und mehr in der Zentralmasse der Spermastrahlung, und zwar hauptsächlich in der dunkleren Rindenzone derselben, angesammelt (Fig. 19, 20). Auf einem folgenden Stadium hat sich das Strahlungszentrum verdoppelt. Die Zentralmasse hat sich in zwei Hälften geteilt, welche senkrecht zu der Eiachse auseinanderrücken (d. h. senkrecht zu derjenigen Achse, welche den animalen und vegetativen Pol des Eies verbindet) und dabei jede die in ihrer Substanz eingeschlossenen Stäbchen mitführen (Fig. 21). Der von zwei Strahlungszentren begleitete männliche Vorkern mitsamt dem umgebenden „hellen Hof", welcher sich immer mehr vergrössert und dabei in die Länge gestreckt hat, senkt sich alsdann tiefer in das Eiprotoplasma ein und trifft mit dem weiblichen Vorkern zusammen. Beide Vorkerne legen sich Seite an Seite nebeneinander. In den Strahlungs-

zentren findet man nunmehr deutlich abgegrenzte Zentrosphären (Zentralkörper oder Zentrosomen), welche in ihrer Mitte ein winziges Zentriol erkennen lassen. An der von den Vorkernen abgewandten Seite der Zentrosphären liegen zwei etwa halbmondförmige dunklere Massen, welche die feinen plastosomatischen Stäbchen einschliessen; vereinzelt kommen aber auch solche Stäbe frei daneben vor (Fig. 22, man vergleiche auch Fig. 21).

Auf dem Stadium der ersten Furchungsspindel sind die beiden Halbmonde verschwunden; plastosomatische Stäbchen liegen nunmehr im ganzen Umkreis der Zentrosphären zwischen den Radien der Strahlung (Fig. 23). In der Fig. 23 konnten nur diejenigen Stäbchen gezeichnet werden, welche (ganz oder annähernd) in der Ebene der Spindelpole gelegen waren; die Zahl der überhaupt vorhandenen Stäbchen ist also noch eine sehr viel grössere und hat gegen frühere Stadien stark zugenommen. Ungefähr die gleiche Lagerung in der Umgebung der Zentrosphären wie in Fig. 23 behalten die Stäbchen bis zum Ablauf der Zelldurchschnürung bei.

Ist nun meine Vermutung zutreffend, dass diese plastosomatischen Stäbchen, wenn auch nur zu einem Teil, aus den Reifen des Spermienkopfes hervorgegangen sind, so hat es demnach wenigstens den Anschein, als ob die Verbreitung der männlichen Plastosomensubstanz in der Eizelle (und möglicherweise auch noch in den Blastomeren) auf die Gegend der Zentren beschränkt bliebe. In der Tat erscheint es kaum annehmbar, dass alle Teile der ganzen grossen Eizelle etwa schon bis zum Abschluss der ersten Furchungsteilung von männlichen protoplasmatischen Erbstoffen durchsetzt seien. Speziell auch die kompakte Plastochondrienansammlung, welche unmittelbar nach der Besamung am vegetativen Pol des Eies entstanden ist, dürfte zunächst noch von einer „Infektion“ mit männlichem Material frei bleiben.

Nach den Beobachtungen Conklins bei Cynthia, welche er bei Phallusia bestätigt fand, ordnet sich diese Masse noch vor Beginn der Zelldurchschnürung zu einem Halbmond an, welcher die eine Seite des Eies dicht unter dem Äquator umgibt; die spätere Entwicklung zeigt, dass dies die hintere Seite ist. Der Halbmond behält während des ganzen Verlaufes der Furchung diese seine Lage an der hinteren Seite des Eies unter dem Äquator bei. Auf dem 32-Zellenstadium findet er sich auf sechs

Zellen verteilt, welche ihrerseits den Muskel- und Mesenchymzellen des Larvenschwanzes Entstehung geben.

Erinnert man sich nun, dass die Plastosomen das Bildungsmaterial für die verschiedensten, im Laufe der Ontogenese auftretenden Differenzierungen, unter anderem auch für die Muskelfibrillen, abgeben, so kommt man zu der Vorstellung, dass das Ei die Hauptmasse seiner Plastosomen dorthin dirigiert, wo sie zunächst und in besonders grosser Menge gebraucht werden.

Literatur. Durch frühere Untersuchungen an befruchteten Ascidieneiern von Strasburger (1875), Boveri (1890), Julin (1893), Hill (1896), Castle (1896), Gólski (1899) u. a. sind keine Tatsachen zutage gefördert worden, welche sich an die von mir beobachteten anknüpfen liessen.

Hill (1896, S. 321) hat folgende Schilderung vom Verhalten des Spermakopfes im Phallusiaei gegeben, für welche ich keine Erklärung weiss. Er beschreibt, dass der Kopf im Ei heranwächst, bis er etwa das Doppelte seiner ursprünglichen Grösse erreicht hat. Dann spaltet er sich plötzlich in zwei. Die Stücke nehmen allmählich eine unregelmässige Perlschnurform an und zerfallen dann in kleine, unregelmässig gestaltete Chromosomen, deren Zahl ungefähr acht oder neun beträgt. Diese Chromosomen sind allem Anschein nach nur vorübergehende Strukturen; denn gleich darauf geht der männliche Vorkern vollständig in den ruhenden Zustand über.

VI. Die an meiner Ascarisarbeit geübten Kritiken (Retzius, Vejdovsky, Held, Romeis).

Die Darstellung, welche ich 1911 von dem Verhalten der männlichen Plastochondrien bei der Befruchtung des Ascariseies gegeben habe, lässt sich kurz folgendermassen resumieren.

Indem das eingedrungene Spermium gegen die Eimitte wandert (wobei es mehr und mehr kugelig wird), bedeckt sich seine Oberfläche mit Plastochondrien, welche aus dem Innern austreten. Auf der Oberfläche des Spermiums zerlegen sie sich in kleinere Körner; ebenso zerlegen sich auch die Plastochondrien, welche im Innern der Samenzelle zurückgeblieben sind, und zwar zuerst diejenigen im Schwanzteil, während sie im Bereich des Kopfteils zunächst noch durchweg mehr gross bleiben. Später,

bald nachdem das Spermium die Eimitte erreicht und sich völlig abgekugelt hat, sind seine sämtlichen Plastochondrien in kleine Körner, welche es dicht durchsetzen, von der Grösse der Eiplastochondrien zerfallen.

Wenn das Spermium sich dem Eizentrum nähert, dreht es seine Schwanzspitze gegen dieses. Um die Schwanzspitze als Mittelpunkt beginnen nun die Plastochondrien der Eizelle sich anzusammeln.[1] Nachdem das Spermium die Eimitte eingenommen hat, umgeben sie es auf allen Seiten, so dass sie eine vollständige Umhüllung desselben bilden; dagegen haben sie sich aus den peripheren Teilen der Eizelle gänzlich zurückgezogen.

Auf einem weiteren Stadium beginnen die männlichen Plastochondrien in das Eiprotoplasma überzutreten.[2] Zunächst wird die Mitte des kugeligen Spermienkörpers von Körnern frei; dagegen häufen sie sich in der Peripherie des Spermiums und in der Umgebung desselben im Eiprotoplasma an. Auf diese Weise entsteht folgendes Bild: das körnerfreie Zentrum des Spermienkörpers wird von einer sehr körnerreichen Zone eingefasst, welche über den Rand des Spermiums in das Eiprotoplasma hinübergreift und den Kontur des Spermiums verdeckt. Nach aussen grenzt sich diese Zone mit unregelmässig zackigem Kontur gegen eine weniger körnerreiche ab, in welche wahrscheinlich erst wenig oder keine männlichen Plastochondrien gedrungen sind.

Die Auswanderung der männlichen Plastochondrien wird in der Folge immer stärker. Schliesslich hat der Spermienkörper seine sämtlichen Körner an die Eizelle abgegeben; das Spermium besteht nunmehr (abgesehen vom Kern) ausschliesslich aus cytoplasmatischer „Grundmasse“ oder aus „Zwischensubstanz“; die Konturen des Spermienkörpers, welche durch die überwandernden Plastochondrien verdeckt waren, treten wieder deutlich hervor.

Nachdem die Mischung zwischen männlichen und weiblichen Plastochondrien sich vollzogen hat, konstatierte ich an meinen Präparaten, dass die Grösse der im Ei vorhandenen Plastochondrien zugenommen und vielleicht auch ihre Zahl abgenommen hat.

[1]) In seltneren Fällen beobachtet man, dass sich zunächst unabhängig vom Spermium im Zentrum des Eies eine Ansammlung von Plastochondrien bildet, in welche das Spermium mit dem Schwanzteil voran hineinrückt.

[2]) Es ist möglich, wenn es sich auch nicht konstatieren lässt, dass einzelne männliche Plastochondrien sich schon auf früheren Stadien von der Spermienoberfläche abgelöst haben.

Ich habe daran gedacht, dass diese Erscheinung möglicherweise darauf beruhen könnte, dass je ein männliches und ein weibliches Korn sich miteinander vereinigt haben; eine solche Vereinigung ist meines Erachtens aus theoretischen Gründen anzunehmen.

Diese meine Befunde am Ascarisei sind nun von verschiedenen Seiten (Retzius, Vejdovsky, Held, Romeis) nachgeprüft worden.

Retzius (1911) hat an seinem von O. Zacharias-Plön ihm überlassenen Material, welches mit einem sehr viel Säure enthaltenden Gemisch fixiert worden ist, jedenfalls nur sehr unvollkommene Bilder von Plastochondrien vor sich gehabt. „In den geeigneten Präparaten lässt sich aber", wie er sagt, „überall dartun, dass die mit den Spermien in die Eier von Ascaris megalocephala eindringenden, relativ grossen Protoplasmakörner sich in die betreffenden Eier distribuieren". Was man weiter „sicher wahrnimmt", ist, „dass die grossen, im Eiprotoplasma zerstreuten Körner bald nicht mehr als solche zu sehen sind".[1]) Er hält aber die Möglichkeit nicht für ausgeschlossen, dass sie im Eiprotoplasma resorbiert werden.

Nun muss allerdings zugegeben werden, dass die Persistenz der männlichen Plastochondrien nicht positiv erwiesen ist; man kann sogar bezweifeln, ob sie überhaupt durch direkte Beobachtung demonstrierbar ist. Andererseits ist es mir aber im höchsten Grade unwahrscheinlich, dass die männlichen Plastochondrien im Ei spurlos verschwinden sollten; ich bitte hierzu das oben S. 230 Gesagte zu vergleichen.

Zu der von mir aus theoretischen Gründen angenommenen Kopulation zwischen männlichen und weiblichen Plastochondrien erklärt Retzius, es sei ihm „trotz aller Bemühung nie gelungen", etwas davon zu sehen. „Für eine solche hochwichtige Annahme", sagt er, „hat man ja doch gar keine faktischen Beweise." Ich glaube nun zwar, dass Retzius an den von ihm hergestellten Präparaten von einer solchen Kopulation selbst dann nichts wahrgenommen hätte, wenn sie tatsächlich zu beobachten wäre. Ich habe aber

[1]) Retzius ist demnach offenbar ebenso wie Held (siehe unten) der Meinung, dass die männlichen Plastochodrien in den Eikörper auswandern, ohne sich vorher zerlegt zu haben. Da er aber meiner Darstellung nicht ausdrücklich widerspricht, gehe ich hier auf diesen Punkt nicht weiter ein, sondern verweise auf meine Kritik der Heldschen Angaben.

auch meinerseits niemals behauptet, diese Kopulation gesehen und bewiesen oder auch nur wahrscheinlich gemacht zu haben. Ich habe nur ausgesprochen, dass die Volumenzunahme der Plastochondrien, welche an meinen Präparaten bald nach der Auswanderung der männlichen Körner zu konstatieren ist, mit einer Kopulation zusammenhängen könnte, habe aber ausdrücklich hervorgehoben, dass die Vergrösserung möglicherweise auf Rechnung einer Quellung zu setzen sei, welche eingetreten sein könnte, weil das fixierende Reagens die auf diesen Stadien bereits stark verdickte Dotterhaut erst nach Ablauf einiger Zeit zu durchdringen vermag.

Im übrigen halte ich jedoch, unter der Voraussetzung, dass die Plastochondrien tatsächlich Erbanlagen darstellen, an dem theoretischen Postulat einer Vereinigung der bei der Befruchtung zusammenkommenden männlichen und weiblichen Plastochondrien nach wie vor fest. Ich vermag nicht zu glauben, dass die väterlichen und mütterlichen Erbanlagen sich auf die Dauer getrennt erhalten, sondern nehme an, und zwar in Übereinstimmung mit Nägeli (1884), Hensen (1885), de Vries (1889), O. Hertwig (1890) u. a., dass sie zu der kindlichen Anlage zusammentreten.

Zur Frage nach der Persistenz der männlichen Plastochondrien im Ei und zur Kopulationshypothese hat sich auch Duesberg (1912) in einem soeben erschienenen umfassenden Sammelbericht geäussert. „Man könnte immer einwenden“, sagt er S. 764, „dass die männlichen Plastosomen nicht weiter verwendet werden bezw. degenerieren, eine Hypothese, die Retzius ausspricht, die aber zu dem absurden Schluss führt, dass die Plastosomen der Embryonalzellen lediglich dem Ei entstammen: was darauf hinauskommt, den Muskelfibrillen, den kollagenen Fasern, den Nervenfibrillen etc. einen ausschliesslich mütterlichen Ursprung zuzuschreiben.“

Duesberg meint weiter, dass ein vollkommnerer Beweis für die Rolle der männlichen Plastosomen als der, den ich bei Ascaris geliefert habe, nicht möglich scheine. „Man sieht in der Tat nicht“, fährt er fort, „welchen anderen Modifikationen die männlichen Plastosomen im Ei unterliegen könnten, als einer Zerteilung, welche ihr Kaliber dem der weiblichen nahebringt und zu ihrer innigen Vermischung führt; weitere Phänomene wie die Kopulation der männlichen und weiblichen Plastosomen scheinen für unsere Untersuchungsmittel unerreichbar zu sein. Es ist daher unerlässlich, hier mit theoretischen Schlussfolgerungen vorzugehen.

wie wir sie schon ausgesprochen haben, es müsste denn sein, dass uns eines Tages neben der mikroskopischen Untersuchung auch Experimente in diesem Punkt zu Hilfe kämen."

Dagegen haben sich ausser Retzius auch noch Held (1912, 1 und 2) und, in der Diskussion zu dem Heldschen Vortrag (1912, 2), Rückert gegen die Kopulationshypothese ausgesprochen. Rückert weist auf die Ungleichheit in der Zahl der männlichen und weiblichen Plastochondrien hin. Dass eine solche im Anfang besteht, ist wohl zweifellos: sie könnte aber nach meiner Meinung durch ein stärkeres Wachstum der männlichen Plastochondrien im Ei ausgeglichen werden.

Vejdovsky (1911—1912) hat Stellung zu meinen Befunden in einer Abhandlung genommen, welche bereits vom 30. Oktober 1910 datiert und demnach vor dem Erscheinen meiner ausführlichen Arbeit (15. Februar 1911) abgeschlossen ist. Der Inhalt der Abhandlung besteht hauptsächlich in Chromosomenstudien.

Nach Vejdovsky müssten die Plastochondrien des Ascarisspermiums, falls sie wirklich als Vererbungsträger funktionieren, unverändert mit den entsprechenden Mikrosomen des Eies vermengt werden. Nach meiner Darstellung verkleinern sie sich aber so weit, bis sie mit den Eimikrosomen übereinstimmen; daraus folgert Vejdovsky, dass sie bei der Vererbung keine Rolle spielen können. — Warum sie es unter diesen Umständen nicht können, vermag ich nicht einzusehen. Die spezifische zu vererbende ultramikroskopische Struktur kann in den Teilprodukten ebensogut wie in den grossen Körnern vorhanden sein; übrigens dürften die grossen Körner des Ascarisspermiums auch ihrerseits im Beginn der Spermiogenese durch Vereinigung kleinerer entstehen.

Vejdovsky beschreibt dann seine eigenen Beobachtungen, nach denen nur der Kopfteil des eingedrungenen Spermiums erhalten bleibt. Dieser bildet in der Eisubstanz einen amöbenartigen Körper, welcher nach allen Richtungen unregelmässige Fortsätze treibt. Die im freien Spermium so überzeugend auftretenden Mitochondrien erscheinen nunmehr als stark aufgequollene, vakuolenartige Kügelchen, die dicht hintereinander folgend strahlenförmige Reihen bilden, welche vom Zentrum des amöbenartigen Körpers gegen die Peripherie laufen. Zwischen den Reihen der Kügelchen sieht man eine feinkörnige Substanz, die gegen das

Zentrum dichter angehäuft ist. Diese Substanz, die in den freien Spermien gar nicht zum Vorschein kam, ist nach Vejdovsky als ein weiteres Umbildungsprodukt der Plastochondrien anzusehen. Schliesslich quellen die Kügelchen noch weiter auf, die feinen Kügelchen vermehren sich. Vejdovsky kommt daraufhin zu dem Resultat, dass die Plastochondrien des Spermiums ihre Individualität in der Eisubstanz nicht bewahren, sondern von derselben assimiliert werden; sie können daher „keine plasmatischen Vererbungsträger vorstellen".

Einer Kritik, die sich auf Beobachtungen wie die eben referierten gründet, bedauere ich keine Berechtigung zuerkennen zu können. Vejdovsky macht über seine Untersuchungsmethode keine Angaben; jedoch hat er, nach dem Aussehen seiner Abbildungen zu urteilen, jedenfalls ein stark saures Mittel in Anwendung gebracht. Auf diese Weise fixierte Präparate sind aber für Plastosomenstudien unbrauchbar, weil in der Regel bereits geringe Säuremengen ausreichend sind, um die Plastosomen in Lösung zu bringen.

Eine weitere Nachuntersuchung rührt von Held (1912, 1 und 2) her, welcher sich ebenso wie ich selbst der Altmannschen Methode bedient hat. Mit den Schlußsätzen Helds kann ich mich im allgemeinen einverstanden erklären. Einer davon lautet: Das Wesen der Befruchtung besteht nicht nur in der Verschmelzung eines männlichen und weiblichen Vorkerns (O. Hertwig, Van Beneden), sondern auch in einer ausgiebigen und engen Vermischung männlicher und weiblicher Plastosomen; [1]) und ferner: „Als unmittelbare Vererbungssubstanz wird ohne weiteres diejenige gelten müssen, welche die Eigenschaften der Kontinuität besitzt und dadurch, dass sie sich zu teilen und zu vermehren vermag, das Leben einer Generation hindurch andauert. Dementsprechend kann das Chromatin nicht als ausschliessliche Vererbungssubstanz (O. Hertwig, Strasburger) bezeichnet werden"; denn auch die Plastosomen bewahren ihre Kontinuität, wie Held

[1]) Held schreibt hier und an anderen Stellen „Plasmosomen". Falls es sich dabei nicht nur um einen wiederholten lapsus calami handelt, bemerke ich, dass die Plasmosomen Arnolds nach meiner Überzeugung, welcher ich schon mehrfach Ausdruck gegeben habe, jedenfalls nur zu einem sehr geringen Teil mit Altmannschen Granulis oder mit Plastochondrien identisch sind.

in Übereinstimmung mit mir, gegen Retzius und Vejdovsky, annimmt.

Jedoch weicht Held besonders insofern von mir (1911) ab, als nach seiner Schilderung die männlichen Plastochondrien unzerlegt aus dem Spermienkörper in das Eiprotoplasma übertreten, sich in ihm zerstreuen und dann erst zerfallen.

Im einzelnen lautet die Beschreibung von Held folgendermassen: Die Ausstreuung der männlichen Plastochondrien („Zentrifugierung oder Ausstreuung der groben Plasmosomen", Held) beginnt, nachdem das Spermium den Mittelpunkt des Eies eingenommen hat.[1]) Durch diesen Prozess bevölkert sich zuerst die zentrale Körnerkugel mit männlichen „Makrosomen"; nach Ausstossung des ersten Richtungskörpers findet man sie bis zur Oberfläche des Eies hin verteilt. In der letzten Phase der Zentrifugierung setzt zugleich ein neuer Prozess ein, der zur Vermehrung und Verkleinerung der männlichen Plastochondrien führt. „Die bis dahin groben und zum Teil als Ringgranula ausgestreuten Gebilde teilen sich dabei direkt schon als Vollkörner in zwei kleinere Granula, die dann zu Stäbchen ausgewachsen wieder sich zerschnüren. Im anderen Falle ist der ganze Prozess komplizierter. Aus den gebildeten Ringgranulis werden echte Ringe von grösserem Durchmesser, die dann an einer Stelle (selten an mehreren) durchreissen, nun sich strecken und dann zu längeren Fäden auswachsen, die bald körnig werden und in viele kleinere Einzelgranula sich zerlegen."

Prinzipiell scheint mir nun allerdings wenig oder gar nichts darauf anzukommen, ob meine Darstellung oder die Heldsche das richtige getroffen hat. Ich behaupte aber mit aller Bestimmtheit, dass unter normalen Verhältnissen kaum ein einziges männliches Plastochondrium in den Eikörper übertritt, ohne sich vorher zerlegt zu haben. Die meiner Schilderung (1911) zugrunde liegenden Präparate zeigen grosse Körner nur im Innern und an der Oberfläche des eingedrungenen Spermiums, kein einziges dagegen frei im Protoplasma des Eies. Auf Grund einer erneuten Durchsicht, welche ich anlässlich der Heldschen Mitteilung vorgenommen habe, kann ich es für ausgeschlossen erklären, dass ich grosse

[1]) Sehr vereinzelte solcher männlichen Granula gehen gelegentlich schon „in der Bahn des in die Tiefe vordringenden Spermiums verloren, zurückbehalten im Protoplasma des Eies".

Körner, welche frei im Eikörper liegen, übersehen hätte; ich verweise auch auf meine Figuren, in denen ich die Plastochondrien mit der grössten mir möglichen Genauigkeit eingezeichnet habe. Andererseits enthält der Protoplasmakörper des eingedrungenen Spermiums in den späteren Stadien (Fig. 7—12 meiner Ascarisarbeit) neben den grösseren zahlreiche kleinere Plastochondrien in verschiedenen Grössenabstufungen und ist zuletzt ausschliesslich von kleinen Plastochondrien erfüllt. Diese kleinen Plastochondrien können nur durch einen Zerfall der grossen entstanden sein, welcher also bereits innerhalb des Spermienkörpers eingetreten ist. Die Darstellung von Held gibt nicht den geringsten Aufschluss darüber, woher diese kleinen Plastochondrien des Spermienkörpers (auf Stadien wie in meiner Fig. 12) stammen. Dass sie von vornherein neben den grösseren vorhanden gewesen sein sollten, ist völlig ausgeschlossen.

Es fragt sich nun, wie Held zu seinen abweichenden Resultaten gekommen ist. Darauf ist zu antworten, dass seine Befunde an pathologisch verändertem Material erhoben sind.

Zur Gewinnung guter Präparate ist es dringend notwendig, dass, wie ich angegeben habe, erstens die Würmer möglichst rasch nach dem Tode des Wirtes in die Hände des Untersuchers kommen und bis zum Moment der Präparation keine Abkühlung erleiden, sondern bei Körpertemperatur sorgfältig warm gehalten werden. Zweitens muss der Inhalt der Eiröhren bei der Fixierung in der Altmannschen Mischung zerzupft werden, und zwar so, dass womöglich jedes einzelne Ei mit dem Reagens in Berührung kommt.

Dass die Abkühlung auf die reifenden Eier, welche sich normalerweise bei der Körpertemperatur des Wirtes entwickeln, schädlich einwirkt, ist bereits von Carnoy (1887, S. 283—285) und Boveri (1887, S. 20 und 1888, S. 14) konstatiert worden. Die genannten Autoren haben darauf hingewiesen, dass infolge der Abkühlung Richtungsspindeln von abnormem Habitus auftreten. Unter den gleichen Bedingungen ereignet es sich nun in der Tat auch häufig, wie ich mich schon früher selbst überzeugt habe, dass das Spermium seine Plastochondrien im Eikörper ausstreut, ohne dass diese vorher zerlegt worden sind. Ich selbst habe nämlich im Anfang die Vorsichtsmassregel, nur sorgfältig warm gehaltene Würmer möglichst rasch nach dem Tode des

Wirts zu verwenden, ausser Acht gelassen und war daher, sogar bei Abfassung meiner vorläufigen Mitteilung (1910, 2), noch nicht zu der klaren Erkenntnis der Tatsache durchgedrungen, dass die männlichen Plastochondrien sich schon vor ihrem Übertritt in den Eikörper zerlegen. Von den Präparaten, auf welche sich meine damalige Schilderung bezog, habe ich in meiner ausführlichen Ascarisarbeit (1911, S. 686) gesagt, dass sie „noch zu wünschen übrig liessen"; sie zeigten vielfach eine Auswanderung unverkleinerter männlicher Plastochondrien, wie Held sie beschreibt, daneben aber Richtungsspindeln, welche meistens mehr oder weniger stark alteriert waren.

Dass Held ein sogar stark abgekühltes Material untersucht hat, ist mir deshalb wahrscheinlich, weil er angibt, dass von dem Spermienkörper „zahlreiche Bröckel oder auch runde und tropfig zugespitzte Massen abgestossen" werden. Diese Erscheinung, die ich in meinen Präparaten niemals beobachtet habe, ist bereits von Sala (1895, S. 451) als eine Folge der Kälteeinwirkung beschrieben worden.

Sodann hat Held auch unterlassen, wie ich auf der Münchener Anatomenversammlung bei Besichtigung seiner Präparate habe feststellen können, meiner zweiten Empfehlung zu folgen und den Inhalt der Eiröhren in dem Altmannschen Gemisch zu zerzupfen, wodurch allein eine schnelle Abtötung der Eier bei Anwendung dieses Mittels gewährleistet wird. Die Eier umgeben sich bekanntlich von dem Moment der Befruchtung an mit einer immer dicker werdenden „Dottermembran", welche dem Eindringen der Reagentien ausserordentlich grossen Widerstand leistet. Fixiert man nun die ganzen Eileiter, so werden besonders die mehr zentralen Eier nur langsam absterben und Zeit haben, sich krankhaft zu verändern, bevor die Fixierungsflüssigkeit bis zu ihnen vorgedrungen ist.[1]) Unter diesen Umständen kann man nach meinen Erfahrungen ebenfalls Bilder erhalten, welche eine Aussaat unzerlegter männlicher Plastochondrien zeigen.

Ich bin übrigens meinerseits nicht einmal sicher, ob die grossen Körner, welche man an solchen mangelhaft konservierten

[1]) Drückt man die Eiballen aus dem Eileiter heraus, ohne sie zu zerzupfen, so werden auch dann nur die oberflächlichen Eier gut fixiert und gerade diese werden bei den weiteren Prozeduren leicht abbröckeln und, wenn man sie nicht besonders sammelt, verloren gehen.

Präparaten im Eikörper verstreut findet, tatsächlich sämtlich aus dem Spermium ausgewandert und nicht vielmehr zum Teil in loco durch Konfluenz mehrerer auf einem Haufen zusammenliegender Eiplastochondrien entstanden sind. Die von Held ausgeführte Doppelfärbung (Fuchsinfärbung nach Altmann, kombiniert mit Molybdänhämatoxylin), durch welche die grossen Körner rot, die kleinen gelb und schwarz gefärbt werden, kann kaum als Beweis des Gegenteils dienen; denn es könnte sich hierbei um weiter nichts als um eine „Konzentrations-Doppelfärbung" im Sinne von Fischer, d. h. um eine rein physikalische Erscheinung handeln. Fischer (1899) führt unter anderen Beispielen für eine solche an, dass er Granula verschiedener Grösse, die er durch Fällung einer 40⁰/₀igen Albumoselösung mit Platinchlorid erhalten hatte, mit Methylgrün-Fuchsin in prachtvoller Weise doppelt färben konnte, und zwar die grösseren substanzreicheren Granula blaugrün, die kleineren rot.

Die von Held beschriebenen Eier weisen ausserdem auch noch verschiedene andere Anzeichen einer nicht einwandsfreien Fixierung auf. Hierher rechne ich z. B., wenn Held angibt, dass die Eiplastochondrien „an mehr oder minder gröberen oder auch sehr feinen Protoplasmafäden aufgereiht" seien. Solche Bilder erhält man nur, wenn die Wirkung der Osmiumsäure eine ungenügende gewesen ist; an gut osmierten Ascariseiern dagegen sieht die Grundsubstanz, abgesehen von den darin enthaltenen Vakuolen, homogen aus.

Held spricht ferner davon (1911, 2, S. 244 oben), dass die Dotterkugeln zu der inneren Perivitellinhülle ausfliessen, „in welcher das Ei schwimmt". Dass der Inhalt peripher gelegener Dotterkugeln nach aussen durchgebrochen ist, kann man in der Tat mitunter wahrnehmen, aber nur bei mangelhafter Konservierung.

Ebenfalls die von Held erwähnten „Ringgranula" und die „echten Ringe" stellen meines Erachtens nichts als Artefakte dar. Es ist eine bekannte Tatsache, dass bei den mit Flemmingscher oder Altmannscher Flüssigkeit fixierten Objekten die Plastosomen überhaupt nur in einer schmalen peripheren Zone gut konserviert werden, welche am stärksten der Einwirkung der Osmiumsäure ausgesetzt war. Im Innern etwas grösserer Objekte dagegen quellen die Plastochondrien zu Bläschen mit hellem Inhalt auf; die Plastokonten verkürzen sich mehr oder weniger stark

und fragmentieren sich in Kügelchen, welche ihrerseits ebenfalls Bläschenform annehmen können. Ich will damit nicht bestreiten, dass bläschenförmige Plastochondrien bei einigen Objekten bereits intra vitam vorkommen. Die „Ringgranula" aber, welche Held in den Ascariseiern beobachtet hat, sind meines Erachtens nur dadurch zustande gekommen, dass er den Inhalt der Eiröhren nicht, wie ich empfohlen habe, im Reagens zerzupft hat; jedenfalls fehlen sie in meinen Präparaten gänzlich.

v. Kemnitz, ein Schüler des Münchener Zoologischen Instituts, meint (1912, S. 494) gelegentlich einer Arbeit, welche sich mit dem Vorkommen von Glycogen und Fett bei Ascaris beschäftigt, man könne die Möglichkeit nicht ausschliessen, dass die von mir beschriebenen männlichen Plastochondrien Produkte des Glanzkörperzerfalls seien. In einer Nachschrift sieht er sich allerdings bereits genötigt, nachdem ihm inzwischen meine ausführliche Abhandlung zu Gesicht gekommen ist, zu erklären, dass seine Vermutung für einen Teil der männlichen Plastochondrien wohl nicht zuträfe, da sie schon bei noch intaktem Glanzkörper darzustellen seien. „Ein anderer Teil aber", sagt er, „dürfte sich dennoch vom Glanzkörper ableiten, da, wie Meves selbst angibt, bei der von ihm angewandten Altmannschen Methode der Glanzkörper sich ebenso wie die Plastochondrien intensiv rot, aber vielfach in einer etwas anderen Nuance (mehr zinnoberrot, während die Plastochondrien Karminton zeigen) tingiert"; man könne also nicht entscheiden, was Plastochondrien und was Glanzkörperprodukte seien.

Darauf möchte ich erwiedern, dass der Glanzkörper nach meinen Beobachtungen überhaupt keinen granulären Zerfall erleidet, sondern im Ei immer kleiner wird und sich dabei verflüssigt; im übrigen darf ich auf die zutreffende Kritik verweisen, welche Romeis (1912, S. 164) bereits an der v. Kemnitzschen Bemerkung geübt hat.

Romeis hat in einer weiteren kürzlich erschienenen Abhandlung (1913) auch zu dem Streit zwischen Held und mir Stellung genommen. Er hat in vielen seiner Präparate ebenso wie Held, „und zwar schon früher als dieser", grössere Körnchen in der Peripherie des Eies aufgefunden; in anderen Präparaten konnte

er sie jedoch nicht wahrnehmen. Er möchte daher an die Möglichkeit glauben, dass Held und ich beide Recht haben. Ich muss demgegenüber dabei bleiben, dass für gut konservierte Eier die von mir gegebene Beschreibung die allein zutreffende ist.

VII. Weitere Einwände und Bedenken gegen die Plastosomentheorie der Vererbung.

1. Einwände, die auf bestimmten Beobachtungen gegründet sind (Vejdovsky, Montgomery, Lillie).

Von mehreren Autoren sind Einwände gegen eine Beteiligung der Plastosomen bei der Vererbung auf Grund von Beobachtungen an anderen Objekten als an den von mir studierten erhoben worden.

Vejdovsky (1911—1912) begründet seinen Widerspruch unter anderem mit der Behauptung, dass bei Diestramena marmorata, einer Heuschrecke, an den Spermien von den Plastochondrien und ihren Derivaten keine Spur vorhanden sei. Er beschreibt, dass der durch Verschmelzung der Plastochondrien entstandene Nebenkern sich bei diesem Tier bald nach Beginn der Spermiogenese in zwei bis fünf spiralig gewundene Fäden differenziert. Im weiteren Verlauf verlängern sich die Fäden, werden aber viel blasser; von dem glatten Achsenfaden unterscheiden sie sich dadurch, dass sie aus feinen Körnchen bestehen. Die Fäden oder besser Kettchen zerfallen sodann in die „ursprünglichen Komponenten", nämlich in Körner. Die Körner schwellen stark an, indem sie sich zu einer fettartigen Substanz umbilden. Die Fettropfen sind der Reihe nach am Achsenfaden entlang angeordnet. Später wandern sie weiter nach hinten und sammeln sich zu grossen Anschwellungen, die den der Reife sich nähernden Spermien seitlich ansitzen und schliesslich mit dem Cytoplasma abgestreift werden.

Diese Angaben stehen, wie ich bereits 1912, S. 83, Anmerkung, gesagt habe, zu denjenigen fast sämtlicher anderer Forscher in Gegensatz, welche mit einer in zellulären Dingen seltenen Übereinstimmung konstatieren, dass aus dem „Nebenkern" in den Spermatiden der Insekten eine Umhüllung des Achsenfadens hervorgeht. Ich will hier nur die Beschreibungen zweier Autoren anführen, welche ebenso wie Vejdovsky die Spermiogenese bei Heuschrecken untersucht haben. Otte (1907, S. 496) stellt fest,

dass der Mitochondrienkörper bei Locusta den ganzen intrazellulären Achsenfaden umgibt und ihn schliesslich so dicht einhüllt, dass dieser „keine Farbe aufnehmen kann, also seine Färbbarkeit verliert“. Gegen das Ende der Ausbildung des Spermiums wird ein Zytoplasmaballen abgestossen, welcher „tingierbare Körnchen“ enthält (S. 505 und 506); diese Körnchen, die früh auftreten und sich später enorm vermehren, haben aber mit dem „Nebenkern“ nichts zu tun. Gérard (1909, S. 604 ff.) findet, dass der Mitochondrienkörper in den Spermatiden von Stenobothrus sich zu einem Band in die Länge streckt, welches sich in Spiraltouren um den Achsenfaden herumwindet. Dieses Band wird immer länger und gleichzeitig immer feiner. Schliesslich zerfällt es in Bläschen, welche dem Achsenfaden in seiner ganzen Länge ansitzen. Die Bläschen platten sich weiterhin am Achsenfaden entlang ab, um eine kontinuierliche Hülle um ihn zu bilden.

Diese Schilderungen von Otte und Gérard muss ich im Gegensatz zu derjenigen von Vejdovsky für zutreffend halten, da sie mit meinen eigenen Beobachtungen (1900) übereinstimmen. Es kann meines Erachtens keine Rede davon sein, dass der Samenfaden sich, wie Vejdovsky behauptet, vor Abschluss der Reifung seiner Plastosomen entledigt; aber es scheint mir allerdings sicher, dass die Substanz des Nebenkernes bei vielen Insekten im Laufe der Spermiogenese eingreifende morphologische Änderungen erfährt, die zum Teil mit solchen der Färbbarkeit Hand in Hand gehen; es fragt sich jedoch, ob diese Änderungen nicht bei der Befruchtung „reversibel“ sind.

Einen weiteren Fall von „complete discharge of Mitochondria from the Spermatozoon“ will Montgomery (1912) bei Peripatus entdeckt haben. Er beschreibt, dass in den Tochterzellen der zweiten Reifungsteilung die Mitochondrien, welche Bläschenform haben, an der Zellperipherie, und zwar an den aneinander stossenden Seiten beider Zellen gelegen sind. Im Beginn der Spermiogenese bilden sie regelmässig eine einfache Lage an der Oberfläche des distalen Zellpoles; früher oder später rücken sie nach vorn und kommen an der Seite des Kernes zu liegen, welcher sich zum Spermienkopf verlängert. Schliesslich verschmelzen sie zu einem Nebenkern; das diesen einschliessende Zytoplasma bewegt sich gleichzeitig am Kopf entlang nach vorn. Die nahezu reifen

Spermien des Vas deferens und Samenbläschens tragen in der Nähe des vorderen Kopfendes einen Zytoplasmaballen, welcher den stark färbbaren Nebenkern enthält. Der Ovidukt des Weibchens dagegen ist mit Spermien vollgestopft, welche sämtlich den Zytoplasmaballen mitsamt dem Nebenkern abgestreift haben.

Nicht nur wegen dieses Endresultates, sondern auch auf Grund der technischen Angaben, welche Montgomery macht, möchte ich bezweifeln, dass es sich bei den von ihm gesehenen Gebilden überhaupt um Mitochondrien handelt. Montgomery gibt an, dass die Mitochondrien sich an seinem Material, welches in Flemmingschem Gemisch und in Sublimat-Eisessig fixiert war, auf die verschiedenste Weise darstellen liessen: sie erschienen blassrot nach Färbung mit Safranin-Gentiana und mit Ehrlich-Biondischer Farbmischung; grau oder schwarz nach Anwendung von Eisenhämatoxylin je nach dem Grad der Entfärbung; dunkelviolett nach der Bendaschen Färbung. Ihm ist nur ein einziges Objekt bekannt, bei welchem sie sich mit gleicher Leichtigkeit färben lassen; das sind die Spermatozyten von Ascaris.

Was sich in den Spermatozyten von Ascaris leicht darstellen lässt, sind nun aber nach meinen eigenen Erfahrungen nicht die Mitochondrien, sondern die „plasmatischen oder Glanzkörpergranulationen", zu denen die Mitochondrien während der Reifungsteilungen als kleine Stäbchen in Beziehung treten (vgl. A. Mayer). Mitochondrien, die sich durch Safranin-Gentiana tingieren lassen, sind mir überhaupt noch nicht vorgekommen. Ich möchte es daher meinerseits für wahrscheinlich halten, dass es sich bei den von Montgomery beschriebenen Mitochondrien nicht um solche, sondern um „tingierbare Körnchen" handelt, wie sie z. B. auch Otte (siehe oben) bei Locusta beschrieben hat.

Lillie (1912) ist durch Studien über die Befruchtung des Nereiseies zu dem Resultat gelangt, dass meine Anschauung, nach welcher die Plastosomen eine protoplasmatische Erbsubstanz repräsentieren, nicht zutreffend sein kann. Er konstatierte bei Beobachtung des lebenden Objektes, dass der Kopf des eindringenden Spermiums an der Eimembran ein deutlich abgegrenztes Körnchen zurücklässt, von welchem der Schwanz ausgeht. Die Untersuchung an fixiertem Material lehrt nun nach Lillie, dass das Knötchen das Mittelstück ist. Dieses mitsamt

dem Schwanz gelangen bei Nereis nicht mit in das Ei hinein. Das Mittelstück bleibt nicht nur ganz deutlich draussen, es findet sich auch keine Spur irgend eines Spermienbestandteiles an der Basis des Kopfes. „An assumption that the spermatozoön introduces any differentiated structure at the base of the head could, in this case, be due only to a preconception in its favor.“

Lillie hat als Fixierungsmittel meine Modifikation der Flemmingschen Lösung und für die Färbung Eisenhämatoxylin angewandt; es ist ihm jedoch nicht geglückt, eine Schwarzfärbung des Mittelstückes zu erzielen. Dass seine Figuren in bezug auf das von ihm behauptete Verhalten des letzteren überzeugend seien, kann ich nicht zugeben und halte ich Skeptizismus in dieser Sache einstweilen noch für erlaubt, besonders, wenn ich bedenke, dass Schaxel noch 1910 (S. 568) behaupten konnte, die Lebendbeobachtung am Seeigelei lehre, dass auch hier „nur der Kopf des Spermatozoons eindringt, während Mittelstück und Schwanzfaden an der Eioberfläche bleiben und degenerieren“. Dabei handelt es sich in letzterem Fall um ein Material, welches dem Verfasser in fast unbegrenzter Menge zur Verfügung gestanden hat.

2. Bedenken allgemeiner Art (Prenant, Lundegårdh, M. Heidenhain, Levi, Regaud).

Es ist bekannt, dass von zahlreichen Seiten Bedenken gegen die Annahme einer besonderen, die Gestaltungsvorgänge beherrschenden Erbsubstanz ausgesprochen worden sind. Diese Bedenken teile ich nicht nur insofern, als sie gegen eine „Magazinierung“ der Erbmasse im Kern gerichtet sind. Auch die Plastosomen fasse ich nicht als eine materia rectrix oder als ein Idioplasma im strengen Naegelischen Sinne auf, sondern im wesentlichen als eine dem Protoplasma beigegebene primitive (indifferente, neutrale) oder embryonale Substanz, welche im Lauf der Ontogenese die mannigfachsten Differenzierungen epigenetisch ausbildet und dabei die ihr innewohnenden Artcharaktere in die Erscheinung treten lässt.

Mehrere Autoren, welche die „mizellar-idioblastischen Vererbungshypothesen“ (Jensen) ablehnen, haben nun schon früher den Satz aufgestellt, dass die Vererbung an die Totalität der Zelle gebunden sei; so z. B. Noll (1903), welcher erklärt, Erbmasse sei das gesamte embryonale Plasma, welches zwar für unsere Wahrnehmung noch mehr oder weniger rudimentär, morphologisch un-

vollkommen differenziert, aber bereits streng spezifisch (artlich) determiniert sei; ferner Jensen (1907), welcher an die Stelle der Sexual- oder Fortpflanzungszellen und sonstigen omnipotenten Zellen den allgemeineren Begriff der Keimsubstanz setzt und diese als einheitliches „lebendiges System" (im Sinne der physikalischen Chemie) bezeichnet „mit allen wesentlichen Eigentümlichkeiten eines solchen" (S. 71 und 96).

Von gleichen oder ähnlichen Ansichten ausgehend haben mir neuerdings mehrere Kritiker den Vorwurf gemacht, dass ich die neben den Plastosomen vorhandenen Bestandteile des Plasmas nicht genügend gewürdigt hätte.

Das scheint z. B. die Meinung Prenants zu sein, wenn er (1910, S. 263) seine Verwunderung darüber ausspricht, dass den „mikromeristischen" Vererbungstheorien in meinen Augen so viel Ansehen geblieben wäre, dass ich die Plastosomen zu Vererbungsträgern gemacht hätte.

Lundegårdh (1910, S. 328) sagt, es gäbe keinen Beweis dafür, dass die Plastosomen die „Qualitäten des Plasmas" repräsentieren. „Denn das, was in der lebenden Zelle als Fäden oder Körnchen hervortritt, ist nur ein Teil des ganzen chemischen Inhalts des Protoplasmas, und niemand hat wohl das Experiment gemacht, die Gerüstteile von den übrigen Bestandteilen (Enchylema) des Plasmas zu trennen, um zu zeigen, dass sie das Plasma wiederbilden können."

Auch M. Heidenhain (1911, S. 1093) kann es nicht für richtig halten, dem Prozess der Vererbung bezw. Entwicklung eine Masse — „Erbmasse" — zu „hypostasieren" und sie bestimmt zu lokalisieren, sei es im Kern, sei es in der Zellsubstanz oder in beiden zugleich; „denn bei den histogenetischen Prozessen", sagt er, „kommt die gesamte lebendige Substanz der Zelle in Frage. Es kann nur darauf ankommen, die entwicklungsphysiologische Rolle aller Teile (also z. B. des Kerns, der Zentren etc.) richtig zu ermitteln. Bei Meves fungieren die Chondriosomen als histologisch bestimmbare Anlagen der späteren Differenzierungen des Zellplasmas; mir genügt indessen — theoretisch gedacht — die Protomerenmasse des befruchteten Eies als Anlagesubstanz . . ."

Eine Antwort auf diese Einwände ergibt sich ohne Schwierigkeit, wenn wir gewisse Vorgänge bei der Histogenese der Säugetierspermien ins Auge fassen.

Die älteren Autoren (v. Kölliker noch 1885) hielten die Säugetierspermien für reine Kernbildungen; der Schwanzfaden sollte aus dem Kern hervorwachsen, die Zellsubstanz gegen Schluss des Reifungsprozesses aufgelöst werden. Die neueren Untersuchungen haben dagegen gezeigt, dass protoplasmatische Bestandteile in den Aufbau der Spermien übergehen. Hals, Schwanz und Perforatorium repräsentieren jedoch keineswegs das gesamte Protoplasma der Bildungszelle, sondern nur einen relativ kleinen Teil desselben. Ein anderer, dem Volumen nach sehr erheblicher Teil wird, wie Brown (1885), v. Ebner (1888), ich selbst (1899), Regaud (1901), Duesberg (1910) u. a. beschrieben haben, abgestossen.

Die erste genauere Beschreibung des Abstossungsprozesses habe ich 1899, S. 359 beim Meerschweinchen gegeben; danach gestaltet er sich bei diesem Tier folgendermassen.

Ich beginne hier mit einem stark vorgeschrittenen Entwicklungsstadium (Fig. b), auf welchem der stark abgeplattete Kopf frei aus dem Protoplasma der Bildungszelle (Spermatide) vorragt; dieses wird von dem Anfangsteil des Schwanzfadens durchsetzt. Die „Schwanzmanschette“ ist geschwunden, die Plastochondrien haben sich dem „Verbindungsstück“ des Schwanzfadens aufgelagert; die tingierbaren Körner sind zu grösseren, unregelmässig gestalteten Klumpen zusammengeballt.

Auf einem folgenden Stadium buchtet sich nun die Zellsubstanz in der Richtung nach vorn über eine der beiden Flächen des Kopfes sackförmig vor; Fig. c zeigt den Vorgang in Flächenansicht, Fig. d in der Ansicht von der Kante. Die Aussackung wird immer stärker ausgezogen; schliesslich steht sie mit dem Samenfaden nur noch durch einen kurzen Stiel in Zusammenhang (Fig. e). Indem letzterer sich vollständig durchschnürt, trennt sich von dem Samenfaden ein rundlicher Zytoplasmaballen ab, welcher hauptsächlich aus Grundsubstanz besteht und die zusammengeklumpten tingierbaren Körner und häufig noch einen oder mehrere dicke Fäden (Residuen der Schwanzmanschette) einschliesst.

Etwas Grundsubstanz bleibt aber allerdings um das Verbindungsstück zurück. Jedoch ist ihre Menge so minimal, dass man an den meisten Spermien auch mit den stärksten Vergrösserungen keine Spur davon wahrnimmt. Ich habe die Existenz einer von

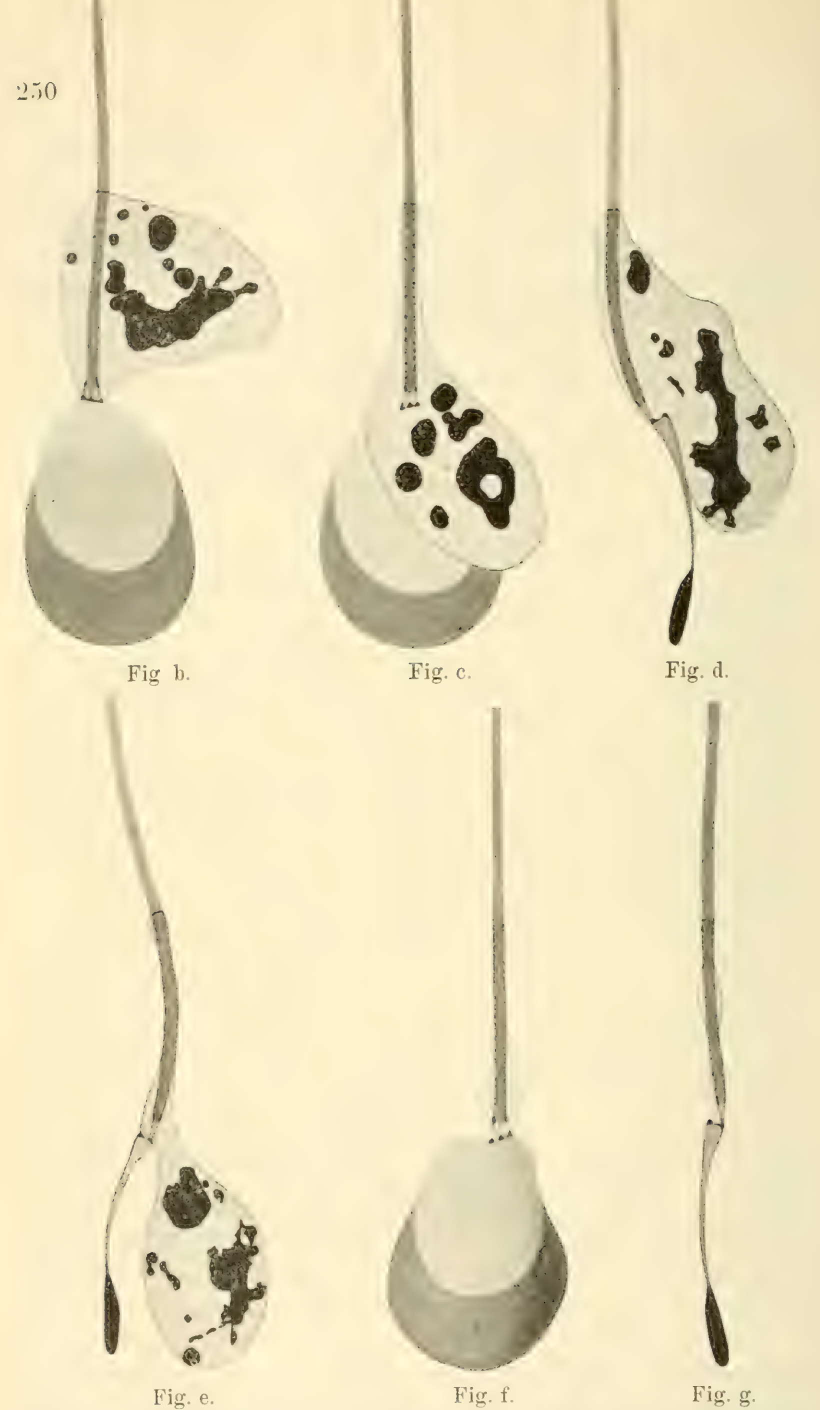


Fig. b—e. Endstadien der Spermiogenese des Meerschweinchens, Abschnürungsprozess der Zellsubstanz. Fig. f und g. Nahezu reife Samenfäden, Fig. f in Flächen-, Fig. g in Kantenansicht.

Grundsubstanz gebildeten Hülle überhaupt nur aus der Histogenese und einer allerdings nicht selten vorkommenden ovalen oder spindelförmigen Auftreibung erschliessen können.

Das Volumen des abgeschnürten Zytoplasmaballens dagegen ist mindestens ebenso gross wie dasjenige von Kopf und Schwanz des Samenfadens zusammen.

Die Grundsubstanz des Spermatidenprotoplasmas samt den eventuell in ihr vorhandenen Strukturen muss also für das Zustandekommen der Vererbung jedenfalls relativ, wenn nicht absolut wertlos sein; dagegen erhellt die Wichtigkeit der Plastochondrien daraus, dass nach meinen und Duesbergs (1910) Feststellungen kein einziges von ihnen in den abgeschnürten Zytoplasmaballen hineingelangt.

Die Natur selbst macht bei der Histogenese der Spermien das von Lundegårdh geforderte Experiment, die Plastosomen von der Grundmasse des Plasmas zu trennen.

Um Missverständnissen vorzubeugen, möchte ich hier nochmals hervorheben, was ich bereits 1910, S. 655 ausgesprochen habe, dass ich durchaus nicht auf dem Standpunkt Altmanns stehe, nach welchem die Grundmasse des Protoplasmas als tot zu betrachten ist. Flemming, dessen „Fila" von 1882, wie ich gezeigt habe, mit Chondriokonten oder Plastokonten identisch sind, hat schon 1882, S. 80, geäussert, es bleibe die Frage, ob die in den Fäden liegenden Kräfte ohne Beisein der „Zwischensubstanz" entwickelt werden könnten. Jensen (1907, S. 73) sagt, wir müssten es als sehr wahrscheinlich annehmen, dass die Bestandteile der protoplasmatischen Grundmasse „chemisch und physikalisch am Zustandekommen der Lebensprozesse integrierend beteiligt sind, sei es durch Wirkungen wie Sauerstoffübertragung, Hydrierungen, Kondensationen etc. . . ., sei es als Träger von Oberflächenenergie, osmotischer Energie etc.".

Diesen Äusserungen stimme ich bei; auch ich bin der Meinung, dass die Lebensäusserungen der Plastosomen an das Vorhandensein der Grundmasse gebunden sind. Aber die Grundmasse der Samenbildungszelle geht jedenfalls nur in minimalster Menge mit in die Befruchtung ein; Kern und Plastosomen des Spermiums finden in der Grundmasse des Eies die geeigneten Bedingungen für ihre Tätigkeit vor. Auf diese Weise kommt man zu dem Resultat, dass die Eizelle an der Befruchtung und

Entwicklung einen grösseren Anteil hat als das Spermium; ein Übergewicht der Eizelle in dieser Beziehung ist ja schon durch ihren Dottergehalt bedingt. Einen grösseren erblichen Wert vermag ich aber im Gegensatz z. B. zu A. Schreiner (1912) der Eizelle deshalb nicht zuzugestehen; „an der Keimanlage ist nicht die Masse, sondern nur die Beschaffenheit einer kleinen wirksamen Partie von Idioplasma das entscheidende“ (Naegeli, 1884, S. 25).

Levi (1911) will die Berechtigung meiner Anschauung, nach welcher die Plastosomen protoplasmatische Vererbungsträger darstellen, nicht bestreiten. Dagegen hat er sich nicht davon überzeugen können, dass sie das Material für die verschiedensten paraplasmatischen Bildungen abgeben.[1]) Überhaupt findet er zwischen beiden Anschauungen einen Widerspruch: „mi riesce inconcepibile che quegli stessi Autori (Regaud [1909], Mawas [1911], Hoven [1910], O. Schultze [1911] ed altri), i quali hanno cercato di dimonstrare la partecipazione attiva dei condriosomi alla secrezione nelle cellule ghiandolari ed all'elaborazione dei materiali metaplasmatici in vari elementi, si dichiarino nello stesso tempo fautori delle idee di Meves“.

Levi glaubt also offenbar, dass er dem „Idioplasma“ die Fähigkeit, sich im Lauf der Entwicklung zu verändern, nicht zugestehen darf; während ich (1908) meine Anschauung von der Beteiligung der Plastosomen bei der Vererbung gerade im Gegenteil zuerst hauptsächlich auf die Rolle gegründet habe, welche sie nach meiner Überzeugung in der Ontogenese spielen.

Zugunsten meiner Auffassung kann ich mich auf Pfeffer berufen, welcher das „Keimplasma“ ebenfalls als „fortbildungsfähig“ ansieht. Nachdem er ausgesprochen hat, dass man „durch Abstraktion ohne jede Hypothese“ auf eine Masse geführt werde, welche „potentiell das Ganze in sich trägt“, und welche als Erbmasse, Idioplasma, Keimplasma, embryonale Substanz bezeichnet werden möge (ohne dass mit diesen Worten eine bestimmte Theorie verknüpft sein solle), fährt er fort (Pflanzenphysiologie, Bd. I, 1897, S. 48—49): „So gut wie das embryonale Gewebe wird auch das Keimplasma zu verschiedenen Zielen und Zwecken ausgenutzt und umgestaltet und büsst damit bedingungsweise oder

[1]) Man vergleiche demgegenüber Duesberg 1912, S. 760, Anm. und neuerdings Dubreuil (1913, S. 140).

gänzlich die bisherige reproduktive Fähigkeit ein. Zu solcher Auffassung drängen wenigstens die Beobachtungen an Pflanzen so unmittelbar, dass unter den Botanikern die, ich möchte sagen, dualistische Auffassung Weismanns keinen Boden fand, nach welcher das die Art erhaltende und das die Arbeit des Wachsens ausführende Plasma sich getrennt nebeneinander erhalten, also nicht in obigem Sinne einheitlichen Ursprungs sind."

Regaud, welcher die Anschauung vertritt, dass die Plastosomen die Aufgabe von Eclectosomen haben, d. h. damit betraut sind, die chemischen Stoffe, welche mit dem Protoplasma in Kontakt kommen, zu absorbieren, hat im Verein mit J. Nicolas und Favre (1912) konstatiert, dass in Talgdrüsenzellen ein Teil der Plastochondrien zu Sekretkugeln wird, ein anderer Teil dagegen bis zum Untergang der Zelle persistiert: daraus hatte er folgenden Schluss gezogen (S. 205): „C'est surtout pour les cellules sébacées, cellules holocrines et absolument stériles, qu'il est impossible d'admettre le rôle d'„organites héréditaires" que Meves a cru devoir leur attribuer, en considération de leur présence dans les cellules de l'embryon. Dans les cellules sébacées, il est clair que les mitochondries fonctionnent en vue de la cellule même qui les contient et qu'elles ne représentent ni un matériel de réserve ni une substance héréditaire destinée à des différenciations ulterieures".

Ich war daraufhin zu der Meinung gekommen, dass Regaud eine Beteiligung der Plastosomen bei der Vererbung überhaupt ablehnt. Auf eine diesbezügliche Anfrage hatte der sehr geehrte Herr Kollege die Güte, mir eine briefliche Darlegung seines Standpunktes zu übermitteln, welche ich mit seiner freundlichen Erlaubnis hier abdrucke. Herr Regaud schreibt mir folgendes:

„Je ne conteste pas que les mitochondries aient une signification héréditaire: le fait qu'elles existent dans les gamètes et qu'elles se transmettent d'une cellule-mère aux cellules-filles lors de la division, le prouve. Du moment que ces organites se transmettent au cours des générations cellulaires, elles sont héréditaires, comme les matières du noyau, etc.

Je ne vous ai donc pas fait d'objections sur ce point.

Bien entendu, je suis entièrement convaincu, notamment par vos travaux, que les chondriosomes jouent un rôle essentiel

dans la formation des organes qui se différencient dans les cellules au cours du développement.

Mais le point capital qui fait la différence des opinions que nous avons exprimées, c'est que je considère les mitochondries comme jouant toujours dans toute cellule un rôle actuel. Même dans l'oeuf et le spermatozoïde, elles ne sont pas simplement „en réserve", elles n'attendent pas seulement leur utilisation par des générations de cellules plus ou moins lointaines: elles sont utilisées actuellement.

Et ce rôle actuel, c'est, à mon avis, celui d'éclectosomes, c'est-à-dire d'organites chargés de l'intusception élective, ou (en d'autres termes) d'absorber les substances dissoutes dont la cellule a besoin. A ce rôle primordial, que je crois constant, les chondriosomes ajoutent (mais seulement dans certaines cellules) le rôle de plastes (cellules musculaires embryonnaires, cellules glandulaires à enclaves sécrétoires figurés, etc.).

Ainsi, si un spermatozoïde contient un chondriome, ce n'est pas seulement parce qu'il doit transmettre ce chondriome à l'oeuf fécondé, c'est avant tout parce que ce chondriome lui est immédiatement nécessaire pour son propre fonctionnement.

J'ai cité les cellules des glandes sébacées comme un exemple très démonstratif, à l'appui de l'opinion que la signification héréditaire des chondriosomes n'est pas générale, car ces cellules étant, comme disait Ranvier, holocrines, c'est à dire se detruisant complètement en sécrétant, et cela sans contestation possible, il est clair que leur mitochondries n'ont pas d'autre rôle qu'un rôle actuel. Je crois que la fonction éclectique du chondriome est générale."

Zwischen Regaud und mir besteht demnach keine erhebliche Meinungsverschiedenheit. Regaud ist ebenfalls der Ansicht, dass die Plastosomen der Sexualzellen einen für die embryonalen Differenzierungsvorgänge bereit gehaltenen Baustoff darstellen. Andererseits stimme ich ihm darin bei, dass diese Gebilde in den Talgdrüsenzellen und in den somatischen Zellen überhaupt eine „aktuelle" Bedeutung besitzen müssen. Ob dies überall ausschliesslich diejenige von „Plasten" ist, will ich gern dahin gestellt sein lassen. Dass sie sich noch in den untergehenden Talgdrüsenzellen finden, könnte allerdings wohl ausschliesslich der Ausdruck einer gewissen Materialverschwendung sein; und gegen

die Annahme, dass sie Eclectosomen darstellen, könnte man wohl einwenden, dass es im erwachsenen Organismus Zellen ohne Plastosomen gibt, das sind solche, in denen die Plastosomen völlig zu paraplastischen Bildungen aufgebraucht sind. Daraus geht meiner Meinung nach weiter hervor, dass die Plastosomen der Sexualzellen nicht notwendig eine elektive Funktion zu haben brauchen.

Literaturverzeichnis.

Altmann, R., 1890: Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen. I. Aufl., Leipzig 1890 (II Aufl., 1894).

Ballowitz, E., 1894: Bemerkungen zu der Arbeit von Dr. phil. Karl Ballowitz über die Samenkörper der Arthropoden nebst weiteren spermatologischen Beiträgen, betreffend die Tunikaten, Mollusken, Würmer, Echinodermen und Coelenteraten. Monatsschr. f. Anat. und Physiol., Bd. 11.

Boveri, Th., 1887: Zellen-Studien, Heft 1. Die Bildung der Richtungskörper bei Ascaris megalocephala und Ascaris lumbricoides. Jena.

Derselbe, 1888: Zellen-Studien, Heft 2: Die Befruchtung und Teilung des Eies von Ascaris megalocephala. Jena.

Derselbe, 1890: Zellen-Studien, Heft 3. Über das Verhalten der chromatischen Kernsubstanz bei der Bildung der Richtungskörper und bei der Befruchtung. Jena.

Bluntschli, H., 1904: Beobachtungen am Ovarialei der Monascidie Cynthia micrococmus. Morph. Jahrb., Bd. 32.

Brown, H., 1885: On Spermatogenesis in the Rat. Quart. Journ. of microsc. Sc., vol. 25, N. S.

Carnoy, J. B., 1886: La cytodiérèse de l'oeuf: La vésicule germinative et les globules polaires de l'Ascaris megalocephala. La cellule, t. 2.

Castle, W. E., 1896: The Early Embryology of Ciona intestinalis, Flemming (L.). Bull. of the Museum of Comparative Zool. at Harvard College, vol. 27.

Conklin, E. G., 1905, 1: The Organization and Cell-Lineage of the Ascidian Egg. Journ. of the Acad. of Natural Sc. of Philadelphia, ser. 2, vol. 13.

Derselbe, 1905, 2: Organ-forming Substances in the Eggs of Ascidians. Biol. Bull., vol. 8.

Derselbe, 1905, 3: Mosaic Development in Ascidian Eggs. Journ. of experimental Zool., vol. 2.

Derselbe, 1911: The Organization of the Egg and the Development of single Blastomeres of Phallusia mamillata. Journ. of experimental Zool., vol. 10.

Driesch, H., 1905: Die Entwicklungsphysiologie von 1902—1905. Erg. d. Anat. und Entwicklungsgesch., Bd. 14, 1904.

Dubreuil, G., 1913: Le chondriome et le dispositif de l'activité sécrètoire etc. Arch. d'anat. micr., t. 15.

Duesberg, J., 1910: Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules séminales. Arch. f. Zellforschung, Bd. 6.

Derselbe, 1912: Plastosomen, „apparato reticolare interno" und Chromidialapparat. Erg. d. Anat. und Entwicklungsgesch., Bd. 20.

v. Ebner, V., 1888: Zur Spermatogenese bei den Säugetieren. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 31.

Fischer, A., 1899: Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena.

Flemming, W., 1882: Zellsubstanz, Kern und Zellteilung.

Gérard, P., 1909: Recherches sur la Spermatogénèse chez Stenobothrus biguttulus (Linn.). Archives de Biologie, t. 24.

Gólski, St., 1899: Reifung und Befruchtung des Eies von Ciona intestinalis. Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie.

Heidenhain, M., 1911: Plasma und Zelle. II. Lieferung. Die kontraktile Substanz, die nervöse Substanz, die Fadengerüstlehre und ihre Objekte.

Held, H., 1912: Über den Vorgang der Befruchtung bei Ascaris megalocephala. 1. Ber. d. K. sächs. Ges. d. Wiss., math.-phys. Kl. und 2. Verhandlungen d. Anat. Ges. auf d. 26. Vers. in München.

Hensen, V., 1881: Physiologie der Zeugung. Handbuch der Physiologie, Bd. 6. II. Teil.

Derselbe, 1885: Die Grundlagen der Vererbung nach dem gegenwärtigen Wissenskreis. Landwirtschaftl. Jahrb., Bd. 14.

Derselbe, 1911: Schlussbericht und Folgerungen aus den quantitativen Bestimmungen des Planktons im Atlantischen Ozean. Ergebnisse der 1889 ausgeführten Plankton-Expedition, Bd. V, O.

Derselbe, 1912: Wachstum und Zeugung. Schrift. d. Naturw. Ver. f. Schleswig-Holstein. Bd. 15.

Hertwig, O., 1890: Vergleich der Ei- und Samenbildung der Nematoden. Eine Grundlage für celluläre Streitfragen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 36.

Hill, M. D., 1896: Notes on the Fecundation of the Egg of Sphaerechinus granularis, and on the Maturation and Fertilisation of the Egg of Phallusia mamillata. Quart. Journ. of Microsc. Sc., N. S., vol. 38.

Jensen, P., 1907: Organische Zweckmässigkeit, Entwicklung und Vererbung vom Standpunkte der Physiologie. Jena.

Julin, Ch., 1893: Structure et développement des glandes sexuelles; ovogenèse, spermatogenèse et fécondation chez Styelopsis grossularia. Bull. scient. de la France et de la Belgique, t. 25.

v. Kemnitz, G., 1912: Die Morphologie des Stoffwechsels bei Ascaris lumbricoides. Ein Beitrag zur physiologisch-chemischen Morphologie der Zelle. Arch. f. Zellforschung, Bd. 7.

v. Kölliker, A., 1885: Die Bedeutung der Zellenkerne für die Vorgänge der Vererbung. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 42.

Levi, G., 1911: Sulla presunta partecipazione dei condriosomi alla differenziazione cellulare. Arch. di Anat. e di Embriol., vol. 10.

Lillie, Frank R., 1912: Studies of Fertilization in Nereis. III. The Morphology of the Normal Fertilization of Nereis. Journ. of Experiment. Zool., vol. 12.

Loyez, Frl. M., 1909: Les premiers stades de la vitellogénèse chez quelques Tuniciers. Compt. rend. de l'assoc. des anatomistes. XI réunion, Nancy.

Lundegårdh, H., 1910: Ein Beitrag zur Kritik zweier Vererbungshypothesen. Über Protoplasmastrukturen in den Wurzelmeristemzellen von Vicia Faba. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 48.

Mayer, A., 1908: Zur Kenntnis der Samenbildung bei Ascaris megalocephala. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontog., Bd. 25.

Meves, Fr., 1899: Über Struktur und Histogenese der Samenfäden des Meerschweinchens. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 54.

Derselbe, 1900: Über den von v. la Valette St. George entdeckten Nebenkern (Mitochondrienkörper) der Samenzellen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 56.

Derselbe, 1908: Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. Cytologische Studien am Hühnerembryo. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 72.

Derselbe, 1910, 1: Zur Einigung zwischen Faden- und Granulalehre des Protoplasmas. Beobachtungen an weissen Blutzellen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 75.

Derselbe, 1910, 2: Über Aussaat männlicher Mitochondrien im Ei bei der Befruchtung. Anat. Anz., Bd. 36.

Derselbe, 1911: Über die Beteiligung der Plastochondrien an der Befruchtung des Eies von Ascaris megalocephala. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 76.

Derselbe, 1912: Verfolgung des sogenannten Mittelstückes des Echinidenspermiums bis zum Ende der ersten Furchungsteilung. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 80, Abt. II

Montgomery, Th. H., jr., 1912: Complete discharge of Mitochondria from the Spermatozoön of Peripatus. Biol. Bull., vol. 22.

v. Naegeli, C., 1884: Mechanisch-physiologische Theorie der Abstammungslehre.

Nicolas, J., Regaud, Cl. und Favre, M., 1912: Sur les mitochondries des glandes sébacées de l'homme et sur la signification générale de ces organites du protoplasma. Compt. rend. de l'assoc. des anatomistes, XIV réunion, Rennes.

Noll, F., 1903: Beobachtungen und Betrachtungen über embryonale Substanz. Biol. Zentralbl., Bd. 23.

Otte, H., 1907: Samenreifung und Samenbildung bei Locusta viridissima. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontog., Bd. 24.

Peter, K., 1909: Experimentelle Untersuchungen über individuelle Variation in der tierischen Entwicklung. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 27.

Pfeffer, W., 1897: Pflanzenphysiologie. Bd. I, Stoffwechsel, Leipzig.

Prenant, A., 1910: Les mitochondries et l'ergastoplasma. Journ. de l'anat. et de la physiol., t. 46.

Regaud, Cl., 1901: Études sur la structure des tubes séminifères et sur la spermatogenèse chez les Mammifères. Arch. d'anat. micr., t. 4.

Derselbe, 1909: Attribution aux „formations mitochondriales“ de la fonction générale d'extraction et de fixation électives, exercée par les cellules vivantes sur les substances dissoutes dans le milieu ambiant. Compt. rend. de la Soc. de Biologie.

Retzius, G., 1904: Biologische Untersuchungen. N. F., Bd. 11.
Derselbe, 1911: Biologische Untersuchungen, N. F., Bd. 16
Romeis, B., 1912: Beobachtungen über Degenerationserscheinungen von Chondriosomen. Nach Untersuchungen an nicht zur Befruchtung gelangten Spermien von Ascaris megalocephala. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 80, Abt. II
Derselbe, 1913: Beobachtungen über die Plastosomen von Ascaris megalocephala während der Embryonalentwicklung unter besonderer Berücksichtigung ihres Verhaltens in den Stamm- und Urgeschlechtszellen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 81, Abt. II.
Rubaschkin, W., 1910: Chondriosomen und Differenzierungsprozesse bei Säugetierembryonen. Anatomische Hefte, Bd. 41.
Sala, L., 1895: Experimentelle Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung der Eier bei Ascaris megalocephala. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 44.
Schaxel, J., 1910: Das Zusammenwirken der Zellbestandteile bei der Eireifung, Furchung und ersten Organbildung der Echinodermen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 75.
Derselbe, 1911: Plasmastrukturen, Chondriosomen und Chromidien. Anat. Anz., Bd. 39.
Schreiner, A., 1912: Kurze Bemerkung zur Frage von der Bedeutung des Kerns und des Zelleibes als Erblichkeitsträger. Biol. Zentralbl., Bd. 32.
Strasburger, E., 1875: Zellbildung und Zellteilung. Jena.
Vejdovský, F., 1911—1912: Zum Problem der Vererbungsträger. Prag, Verlag d. K. böhm. Ges. d. Wiss.
de Vries, H., 1889: Intracellulare Pangenesis. Jena.
Zoja, L. und R., 1891: Intorno ai plastiduli fucsinofili (bioblasti dell' Altmann). Mem. Ist. Lomb. Sc. Lett., Milano, vol. 16.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel XI—XIV.

Die Abbildungen der Tafeln XI—XIV sind mit Zeiss' Apochromat 2 mm (Apertur 1,30 oder 1,40 mm) und Kompensationsokular 12 unter Benutzung des Abbeschen Zeichenapparates entworfen. Der Abstand der Zeichenebene von der Ebene des Tisches betrug 17½ cm. Sämtlich nach Präparaten, welche mit Fuchsin-Pikrinsäure nach Altmann gefärbt worden sind. Bei den Spermien der Fig. 1 hat 1proz. Osmiumsäure, bei den Eiern der Fig. 2—23 Altmannsches Gemisch als Fixierungsmittel gedient.

Tafel XI.

Fig. 1a. Spermium einer bei Kristineberg vorkommenden Phallusiaart (wahrscheinlich Phallusia aspersa), deren Samenfäden sich von denjenigen von Phallusia mamillata nicht in erkennbarer Weise unterscheiden; Fig. 1b—p Spermienköpfe derselben Art. Fig. 1q—s Spermienköpfe von Phallusia mamillata, welche entweder unreif oder durch die Fixierung verändert sind. Beschreibung im Text S. 218—220.

Fig. 2 und 3. Eier von Phallusia mamillata, vegetativer Pol mit eingedrungenem Samenfaden, 12 Minuten nach der Befruchtung.

Fig. 4. Ei desselben Tieres, 20 Minuten nach der Befruchtung.

Fig. 5, 6 und 7. Eier desselben Tieres, 1/2 Stunde nach der Befruchtung. Beschreibung im Text S. 226. Der bräunliche Stab, den man bei Fig. 6 im Innern des Spermienkopfes, allerdings nur in den oberen zwei Dritteln desselben, wahrnimmt, ist der eigentliche Kopf oder der Kernanteil des Kopfes.

Tafel XII.

Fig. 8—13. Eier von Phallusia mamillata (vegetativer Pol), 1/2 Stunde nach der Befruchtung.

Fig. 8. Spermienkopf von der Seite gesehen, am oberen Ende stärker als am unteren aufgequollen. Vergl. Text S. 227.

Fig. 9 und 10. Spermienköpfe von der Seite gesehen, mit Kernstäben im Innern. In Fig. 9 ist nur ein einziger plastosomatischer Ring vorhanden, welcher bei hoher Einstellung wiedergegeben ist. Fig. 10 bei Einstellung auf die Längsachse gezeichnet.

Fig. 11. Spermienkopf auf einem optischen Querschnitt senkrecht zur Längsachse; im Innern der bereits stärker verdickte Kernstab gleichfalls auf dem Querschnitt.

Fig. 12 und 13. Spermienköpfe von der Seite gesehen, in Fig. 12 bei wechselnder Einstellung, in Fig. 13 bei Einstellung auf die Längsachse gezeichnet.

Tafel XIII.

Fig. 14—16. Eier von Phallusia mamillata (vegetativer Pol) 1/2 Stunde nach der Befruchtung.

Fig. 14 und 15. Spermienköpfe von der Seite gesehen, in Fig. 14 bei wechselnder Einstellung, in Fig. 15 bei Einstellung auf die Längsachse wiedergegeben. In letzterer Figur sind die tiefer liegenden Teile der plastosomatischen Reifen blassrot mitgezeichnet, der eiförmige Körper im Innern des Spermienkopfes (Fig. 15) ist der eigentliche Kopf oder der Spermakern.

Fig. 16. Reifen des Spermienkopfes geschwunden. Drei plastosomatische Stäbchen nahe dem unteren Rand des das Spermozentrum umgebenden hellen Hofes.

Fig. 17 und 18. Eier, 50 Minuten nach der Befruchtung. Die plastosomatischen Stäbchen sind zahlreicher geworden. In Fig. 18 hat der Spermakern seine zytoplasmatische Hülle verloren.

Fig. 19. Ei, 1 Stunde nach der Befruchtung. Spermakern herangewachsen, lappig. Zahlreiche plastosomatische Stäbchen.

Tafel XIV.

Fig. 20—23. Eier von Phallusia mamillata (vegetativer Pol), 1½ Stunden nach der Befruchtung.

Fig. 20. Zahlreiche plastosomatische Stäbchen in der Zentralmasse der Spermastrahlung versammelt.

Fig. 21. Zentralmasse der Spermastrahlung in zwei Hälften geteilt, welche nach entgegengesetzten Seiten auseinanderrücken und die in ihrer Substanz eingeschlossenen Stäbchen mitführen.

Fig. 22. Sperma- und Eikern haben sich nebeneinander gelegt. Zentrosphären; an den von den Vorkernen abgewandten Seiten der letzteren zwei etwas dunklere Halbmonde, welche die plastosomatischen Stäbchen zum grössten Teil einschliessen.

Fig. 23. Stadium der ersten Furchungsspindel. Plastosomatische Stäbchen im Umkreis der Zentrosphären.

Aus dem Biologischen Laboratorium der Universität Bonn.

Über pluripolare Mitosen in Hodenregeneraten von Rana fusca.

Von

cand. med. **Arnold Lauche.**

Hierzu Tafel XV.

Entfernt man einem Rana fusca ♂ auf beiden Seiten den grössten Teil der Keimdrüsen, so beginnt in dem zurückgelassenen Rest ein neuer Cyclus der Samenbildung. Bekanntlich verläuft dieser Vorgang bei Rana fusca in einem jährlichen Cyclus, der bald nach der Laichzeit, also etwa im Mai, beginnt und bis zum Oktober zur Bildung von Samenfäden fortgeschritten ist. Während der Wintermonate ändert sich das histologische Bild dann nicht mehr.

Wie M. Nussbaum (35) weiter fand, beginnt in kleinen transplantierten Hodenstücken von Rana fusca nach Rückbildung aller vorhandenen übrigen Stadien eine neue Samenbildung aus den zurückgebliebenen Spermatogonien; der im Normalen streng eingehaltene Jahrescyclus wird dabei nicht eingehalten.

Diese neu einsetzende Samenbildung verläuft nun nach Meyns (30, 31) um so schneller, je weiter die normale Entwicklung zur Zeit der Operation schon fortgeschritten war, am schnellsten also kurz vor der Laichzeit.

Bei den von mir im Biologischen Laboratorium ausgeführten Transplantationen von Hodenstücken und gelegentlich der Untersuchung unvollständig kastrierter Männchen von Rana fusca zeigte es sich, dass dieser bedeutende Unterschied in der Entwicklung der Samenfäden nicht der einzige zwischen dem normalen und dem regenerativen Ablauf ist.

Kastriert man kurz vor der Laichzeit männliche Rana fusca nur so weit, dass in den zurückgebliebenen Resten eine beschleunigte Samenbildung sich abspielen kann, so treten in den Regeneraten pluripolare Mitosen auf.

Ich fand sie nur in den ersten Tagen nach der Operation, während die Präparate, welche über 14 Tage post. op. fixiert wurden, keine pluripolaren Mitosen mehr zeigten.

Die meisten derartigen Teilungsbilder fand ich in dem jüngsten Regenerat, 5 Tage nach der Operation; in den älteren werden sie spärlicher, nach dem 14. Tage verschwinden sie ganz.

Wie Fig. 1—7 zeigt, handelt es sich um drei- bis achtpolige Mitosen.

Pluripolare Mitosen, die nach ihrer Entdeckung durch Eberth (1876)[1]) zuerst von Pathologen, unter anderen von Arnold (1), Martin (27), Waldstein (41), Cornil (8), Schottländer (37), Borrel (4), Klebs (22), v. Kostanecki (24), Nauwerck (34), Hansemann (13, 14), Ströbe (40), Galeotti (12) und Krompecher (25) in pathologisch verändertem Gewebe und vor allem in malignen Tumoren gefunden wurden, sind jetzt auch aus normalem Gewebe bekannt.

Sie treten stets auf bei der normalen Teilung mehrkerniger Riesenzellen (vgl. Meves [29]). Denys (10) beobachtete sie bei der Vermehrung der Riesenzellen im Knochenmark, Kostanecki (24) in den Riesenzellen der embryonalen Säugetierleber, Broman (6) bei der Teilung der Riesenspermatiden vom Bombinator igneus.

Ausserdem entstehen nach His (21) pluripolare Mitosen ganz allgemein in Syncytien, wo das Wirkungsgebiet der Centren nicht durch Grenzschichten abgeschlossen ist, so dass benachbarte Strahlungsgebiete ineinander übergreifen und sich zur Bildung mehrpoliger Spindelsysteme verbinden (l. c. S. 410, siehe auch Conklin [7], S. 534). Hierher gehört auch die Beobachtung Henneguys (17), der pluripolare Mitosen in der Dotterschicht der Forellenkeimscheibe auftreten sah. Raffaele (36) beschreibt ebenfalls pluripolare Mitosen im Dottersyncytium von Knochenfischeiern (cit. nach Meves [1898], S. 510).

Eine weitere Anzahl von Beobachtungen betrifft pluripolare Mitosen in anormalen Eizellen verschiedener Tiere, wie Ascaris (zur Strassen [38]), Thysanozoon (van der Stricht [39]), Seeigel (Baltzer [2]), Crepidula (Conklin [7]).

Die bekannten Arbeiten von O. und R. Hertwig (20), G. Loeb (26), T. H. Morgan (32, 33), E. B. Wilson (42) und neuerdings Konopacki (23), Conklin (7) und O. Hertwig (19) haben die Erzeugung pluripolarer Mitosen gelehrt und diese Vorgänge damit der Erforschung durch das Experiment zugänglich gemacht.

[1]) Zit. nach Krompecher (l. c. S. 52).

Durch die verschiedensten chemischen und physikalischen Agentien sind von den genannten Forschern die Zellteilungsvorgänge derart beeinflusst worden, dass durch Ausfall der Zellteilung nach der Kernteilung oder auf andere Weise pluripolare Mitosen entstanden.

Besonders interessieren in dem vorliegenden Falle die bisherigen Beobachtungen pluripolarmitotischer Teilungsvorgänge in den Zellen der männlichen Keimdrüsen und besonders in den Hoden der Amphibien.

Bouin (5) fand zahlreiche mehrpolige Kernteilungen in den Hoden junger Ratten.

Flemming (11) beschreibt pluripolare Teilungen der Spermatocyten des Salamanderhodens. Da er diese nur einmal beobachtete und die Chromosomen in diesem Falle atypische Form zeigten, glaubt er es mit einem pathologischen Befund zu tun zu haben.

Broman (6) fand stets in den Hoden von Bombinator igneus eine wechselnd grosse Zahl von Riesenspermatocyten, die sich vermittels pluripolarer Mitose in Riesenspermatiden umwandeln. Er beobachtete drei- bis achtpolige Mitosen. Einzeln liegende Chromosomen sah er sich zu kleinen Kernen umbilden, ein Vorgang, wie ihn auch Meves (28) bei der Entwicklung vielkerniger Spermatogonien von Salamandra maculosa beschreibt. Hier entstehen aber die vielkernigen Spermatogonien nicht durch pluripolare Mitosen, sondern durch anormalen Verlauf einer bipolaren Mitose, indem nicht alle Chromosomen sich vereinigen, sondern teilweise zu selbständigen kleinen Kernen werden.

In allen diesen drei Fällen gehen die so gebildeten mehrkernigen Zellen später meist zugrunde. Nur einzelne Riesenspermatiden sah Broman zu Riesen- oder monströsen Spermien sich weiter entwickeln.

Von Rana sind derartige Abnormitäten im Verlauf der Spermatogenese meines Wissens nicht bekannt.

Die von mir beobachteten pluripolaren Mitosen sind durchaus anderer Herkunft, wie die bisher bekannten bei Salamandra und Bombinator.

In diesen Fällen handelt es sich um typische Riesenzellen. Bei ihnen liegt, wie für Riesenzellen charakteristisch (vgl. Heidenhain [16], S. 273), die Kernsubstanz peripher und lässt

die Zellmitte frei. Die Vermehrung erfolgt ebenfalls in typischer Weise durch pluripolare Kernteilung (vgl. Meves [29], S. 510). Das Resultat der Teilung sind dann entweder mehrkernige Zellen oder Zellen mit Riesenkernen, die dann mehr oder weniger schnell dem Untergang verfallen.

Ganz anders ist, wie wir sehen werden, das Schicksal der hier zu beschreibenden Zellen.

Ein weiterer Unterschied besteht auch in der Entstehungsweise der mehrkernigen Zellen, die in unserem Falle, soweit mir bekannt, nicht in der Natur vorkommen, sondern ihre Entstehung nur den durch die partielle Kastration geschaffenen Bedingungen verdanken.

Soweit die Präparate ein Urteil gestatten, scheint mir folgendes vorzuliegen.

Unter den durch die Operation gesetzten Bedingungen beginnen die normalerweise noch längere Zeit in Ruhe bleibenden wandständigen Spermatogonien sich zu teilen. Diese erste Teilung verläuft in normaler Weise.

Wie die Präparate zeigen, unterbleibt die der Kernteilung sonst folgende Zellteilung: es entstehen also zweikernige Zellen.

Diese teilen sich nach kurzer Pause zum zweiten Male. Es entsteht eine vierpolige, oder da in einzelnen Fällen zwei Pole zusammenfallen, eine dreipolige Mitose (Fig. 1, 6). Auch nach dieser zweiten Kernteilung unterbleibt die Zellteilung. So entstehen drei- oder vierkernige Zellen (Fig. 10). Die nächste Mitose, die bald darauf folgt, zeigt sechs bis acht Pole (Fig. 2—5, 7). Diesmal unterbleibt ebenfalls die Zellteilung. Das Resultat sind sechs- bis achtkernige Zellen (Fig. 11).

Weiter geht nun diese Art der Kernteilung nicht mehr. Mehr als acht Kerne in einer Zelle habe ich in den Schnittserien nicht nachweisen können.

Als wesentlich hervorzuheben ist schon jetzt, dass die auf diese Weise entstandenen Kerne durchaus das Aussehen normaler Spermatogonienkerne haben. Sie sind weder hyper- noch hypochromatisch, unterscheiden sich auch in der Grösse nicht in erheblichem Grade voneinander und von normalen Kernen. Die von Bouin (5, S. 300) festgestellte Tatsache, dass hyperchromatische Kerne sich fast immer mittels pluripolarer Mitose teilen, kann

hier also zur Erklärung des Auftretens der vielpoligen Teilungsbilder nicht herangezogen werden.

Die Zahl der Chromosomen liess sich nicht mit Sicherheit feststellen. Sie scheint aber der Summe der in den beteiligten Kernen enthaltenen im grossen und ganzen zu entsprechen.

Nach der dritten Mitose scheint eine längere Pause einzutreten. Ich glaube das aus folgendem schliessen zu können:

In den meisten Spermatogonien ist diese dritte Mitose schon nach dem 5. Tage abgelaufen. Die Präparate vom 14. Tage nach der Operation zeigen wieder zahlreiche Mitosen. In den Cysten fanden sich dann nie mehr als etwa 130 Zellen. Es können in der ganzen Zwischenzeit also höchstens vier Mitosen aufgetreten sein.

Weiter ist nun auch bemerkenswert: Die Präparate über 14 Tage post. op. fixiert, zeigen keine vielkernigen Zellen mehr. In der Zwischenzeit sind also die Zellteilungen nachgeholt worden.

Eine andere Erklärung erscheint mir aus folgenden Gründen nicht möglich, weil erstens neue wandständige Spermatogonien, die evtl. in normaler Weise sich vermehrt haben könnten, in nennenswerter Anzahl in der Zwischenzeit nicht in Teilung getreten sind und zweitens kein Anhalt dafür vorhanden ist, dass die gebildeten mehrkernigen Zellen zugrunde gegangen sind.

Degenerierende pyknotische Kerne habe ich trotz eifrigen Suchens nicht finden können, ausser einigen wenigen kleinen Fragmenten, die, wie ich glaube, versprengte Chromosomen darstellen. Wie besonders aus Fig. 1, 2c und 6 hervorgeht, treten während der pluripolaren Teilung Störungen auf, infolge deren einzelne Chromosomen isoliert bleiben und nicht mit den anderen zu den Tochterkernen verschmelzen.

Sie bilden nun nicht wie bei Salamandra (Meves) und Bombinator (Broman l. c.) selbständige kleine Kerne, sondern gehen alsbald zugrunde.

Wir finden also eine Reihe wesentlicher Unterschiede zwischen den bisher beobachteten mehrkernigen Zellen in den Amphibienhoden und den hier beschriebenen.

Es handelt sich hier nicht um typische Riesenzellen, deren charakteristische Eigenschaften ich oben angeführt habe.

In unserem Falle ist die Kernsubstanz auf eine Reihe von Kernen verteilt und im Zentrum der Zelle lokalisiert (Fig. 10 und 11).

Die aus den Teilungen hervorgehenden Kerne sind durchaus normal. Im Gegensatz zu den schon bekannten Fällen gehen die hier beschriebenen Zellen nicht zugrunde. Ist später die ausgebliebene Zellteilung nachgeholt, dann verläuft der Prozess, abgesehen von der grösseren Schnelligkeit, in durchaus typischer Weise.

Wir haben es also hier mit vorübergehend auftretenden Abweichungen zu tun, die ihre Entstehung den durch die Operation gesetzten Bedingungen verdanken.

Wie die Experimente von O. und R. Hertwig (l. c.), Loeb (l. c.), Morgan (l. c.), Wilson (l. c.), Konopacki (l. c.) und besonders Conklin (l. c.) zeigen, unterbleibt bei veränderten mechanischen und osmotischen Druckverhältnissen oft die der Kernteilung folgende Zellteilung.

Ich halte es nicht für unwahrscheinlich, dass unter anderem auch hier abnorme Druckverhältnisse eine Rolle spielen.

Ein Blick auf Fig. 8 und 9 wird meine Annahme verständlich erscheinen lassen. In Fig. 8 ist ein Hodenkanälchen aus dem 5 Tage alten Regenerat abgebildet.

Wie man sieht, sind die Lumina erfüllt von degenerierenden Samenfäden, dazwischen einzelne Leukocyten mit den Resten zerfallener Samenfadenköpfe.

Die Wand der Kanälchen wird von den in lebhafter Vermehrung befindlichen, dicht gedrängt liegenden Spermatogonien und den dazwischen liegenden Cystenwandzellen gebildet.

Makroskopisch ist das nach der Operation stark hyperämische Organ prall gespannt und steht in starkem Gegensatz zu dem nach der Begattung schlaffen normalen Hoden.

Das schlaffe lockere Gefüge des normalen Testikels zeigt sich auch deutlich im mikroskopischen Bild.

In Fig. 9 sehen wir das Lumen der normalen Hodenkanäle nahezu frei von den Resten der letzten Samenfädengeneration.

Die wandständigen Spermatogonien, welche meist gerade ihre erste Teilung, höchstens aber schon die zweite, vollenden, liegen locker nebeneinander.

Bis zu der Zeit, wo die dritte und vierte Teilung stattfindet, ist das Lumen vollständig leer und wie Präparate aus dieser Zeit zeigen, noch erheblich weiter geworden. Es ist also ausreichend Platz für die langsam sich bildenden Cysten.

Unter ganz anderen Bedingungen verläuft die Vermehrung der Spermatogonien in dem Regenerat.

Durch die Operation werden die ruhenden Spermatogonien zu schnell aufeinander folgenden Teilungen veranlasst.

Schon innerhalb der ersten 4 Tage nach der Operation wird von vielen die dritte Teilung vollendet

Die auf diese Weise gebildeten Kerne haben keinen Platz, um auseinander zu weichen. Die der Kernteilung sonst folgende Zellteilung bleibt aus; es entstehen zwei-, vier-, dann achtkernige Zellen.

Damit ist nun aber jeder verfügbare Raum ausgefüllt. Es tritt eine Pause ein, während der das Detritusmaterial aus dem Lumen durch Phagozytose entfernt wird.

Inzwischen ist die Hyperämie geschwunden. Unter der Einwirkung der durch die partielle Kastration gesetzten Reize verläuft nun die Bildung neuen Samens im schnellsten Tempo weiter.

In keiner der späteren Serien, die überaus reich an Kernteilungsfiguren sind, habe ich pluripolare Mitosen entdecken können, ein Umstand, der dafür spricht, dass es wohl nicht das pathologisch schnelle Wachstum direkt ist, welches zur Bildung der pluripolaren Mitosen führt.

Die Schnelligkeit des Prozesses ist in den späteren Stadien die gleiche wie in den früheren, und doch treten keine derartigen Störungen auf.

Indirekt ist natürlich das schnelle Aufeinanderfolgen der Teilungen die Bedingung, die zur Bildung der mehrpoligen Teilungsbilder führt.

Nach den beobachteten und hier erörterten Tatsachen sind wahrscheinlich die starke Raumbeengung und die daraus folgenden abnormen Druckverhältnisse ein wesentliches Moment für das Zustandekommen der pluripolaren Mitosen, indem unter der mechanischen Einwirkung die Teilung des Zelleibes nach der Kernteilung ausbleibt.

Zusammenfassung.

1. In den durch partielle Kastration kurz vor der Laichzeit zu schnellster Regeneration gebrachten Hodenresten von Rana fusca finden sich in den ersten 14 Tagen nach dem operativen Eingriff zahlreiche pluripolare Mitosen.

2. Diese entstehen dadurch, dass bei der ersten, zweiten und dritten indirekten Kernteilung in den wandständigen Spermatogonien die Zellteilung unterbleibt.
3. Im Gegensatz zu den bisher bekannten pluripolarmitotischen Vorgängen in Amphibienhoden, handelt es sich hier nicht um Teilungsbilder von typischen Riesenzellen.
4. Im Gegensatz zu diesen, deren Schicksal mehr oder weniger früh eintretender Untergang ist, vollenden die hier beschriebenen Zellen ihre Entwicklung zu Samenfäden, nachdem die vorerst unterbliebene Zellteilung nachgeholt wird, und vom Sechzehn-Zellenstadium der Cysten an die weiteren Teilungen normal verlaufen.
5. Die Bedingungen für das Auftreten dieser pluripolaren Mitosen sind indirekt durch das Auftreten der sich überstürzenden Spermatogenese nach der partiellen Kastration, direkt durch die damit im Hodengewebe entstehenden Zustände, in erster Linie wohl durch die Raumbeengung und die damit zusammenhängenden abnormen Druckverhältnisse, gegeben.

Literaturverzeichnis.

Die mit * bezeichneten Abhandlungen sind zitiert nach Bouin (5).

*1. Arnold, J.: Beobachtungen über Kernteilungsfiguren in Zellen der Geschwülste. Virchows Arch., Bd. LXXVIII, 1879.
2. Baltzer, F.: Übermehrpolige Mitosen in Seeigeleiern. Verh. d. med.-phys. Ges. Würzburg, Bd. XXXIX, 1908.
3. Derselbe: Zur Kenntnis der Mechanik der Kernteilungsfiguren. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. XXXII, 1911.
*4. Borrel: De la division du noyau et de la division cellulaire dans les tumeurs épithéliales. Journ. de l'anat. et de la phys., 1892.
5. Bouin: Études sur l'évolution normale et l'involution du tube séminifère. Arch. d'anat. micr., Tom. 1, 1897.
6. Broman, J.: Über Riesenspermatiden bei Bombinator igneus. Anat. Anz., Bd. 17, 1900.
7. Conklin, E. G.: Experimental studies of nuclear and cell division in the eggs of brepidula. Philadelphia, 1912.
*8. Cornil: Sur la multiplication des cellules de la moelle des os par division indirecte dans l'inflammation. Arch. de phys. norm. et path., 1887.

*9. Derselbe: Mode de la multiplication des nouyeaux et des cellules dans l'épithelioma. Journ. de l'anat. et de la phys., 1891.
*10. Denys: La bellule. II. 1887.
11. Flemming, W.: Neue Beiträge zur Kenntnis der Zelle. Arch. f. mikr. Anat., Bd. XLVI, 1895.
*12. Galeotti, G.: Beitrag zum Studium des Chromatins in den Epithelzellen des Carcinom. Beiträge zur Path. und allgem. Path., Bd. XIV, 1893.
13. Hansemann: Über pathologische Mitosen. Virchows Archiv, Bd. 122, 1891.
14. Derselbe: Über asymetrische Zellteilung in Epithelkrebsen. Ibid., Bd. 119, 1890.
15. Hartog, M.: Mitokinetisme in the mitotic spindle and in the polyasters. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 27, 1909.
16. Heidenhain, M.: Plasma und Zelle. 1. Abt., Bd. 8 des Handbuches der Anatomie des Menschen. Herausgeg. von K. v. Bardeleben. Jena 1907.
17. Henneguy: Nouvelles recherches sur la division cellulaire indirecte. Journ. de l'anat. I., 27, 1891.
18. Hertwig, O.: Allgemeine Biologie. Jena 1912.
19. Derselbe: Versuche an Tritoneiern über die Einwirkung bestrahlter Samenfäden auf tierische Entwicklung. Arch. f. mikr. Anat., 1913.
20. Hertwig, O. und R.: Über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies unter dem Einfluss äusserer Agentien. Jena 1887.
21. His, W.: Über Zellen- und Syncytienbildung. Studien am Salmonidenkeim. Abhandl. d. math.-phys. Kl. d. k. sächs. Ges. d. Wiss., Bd. 24, 1898.
*22. Klebs, G.: Zur Physiologie der Fortpflanzung. Biol. Zentralblatt, Bd. IX, 1889.
23. Konopacki, M.: Über den Einfluss hypertonischer Lösungen auf befruchtete Echiniden-Eier. Arch. f. Zellforschung, Bd. VII, 1911.
24. Kostanecki, K.: Über Kernteilung bei Riesenzellen. Anat. Hefte, 1892.
25. Krompecher, E.: Die mehrfache indirekte Kernteilung. Verh. d. Anat. Ges. Basel, Jena 1895.
26. Loeb, J.: Über Kernteilung ohne Zellteilung. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. II, 1895.
*27. Martin, W. A.: Zur Kenntnis der indirekten Kernteilung. Virchows Arch., Bd. LXXXII, 1881.
28. Meves, F.: Über eine Metamorphose der Attraktionssphäre in den Spermatogonien von Salamandra maculosa. Archiv f. mikr. Anat., Bd. 44, 1895.
29. Derselbe: Zellteilung. Ref. in Merkel und Bonnets Ergebnissen. Bd. 8, 1898.
30. Meyns, R.: Über Froschhodentransplantation. Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 132, Bonn 1910.
31. Derselbe: Transplantation embryonaler und jugendlicher Keimdrüsen auf erwachsene Tiere bei Anuren. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 79, II. Abt., 1912.

32. Morgan, T. H.: The action of salt solutions on the infertilized and fertilized eggs of Arbacia and of other aninals. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. VIII, 1899.
33. Derselbe: Further studies on the action of salt solutions and of other agents on the eggs of Arbacia, ibidem, Bd. X, 1900.
*34. Nauwerck: Über Muskelregeneration nach Verletzungen. Jena 1890.
35. Nussbaum, M.: Pflügers Arch., 126, 542, 1909.
36. Raffaele, F.: Osservationi intorno al suicizio perilecitico delle uova dei Teleostei. Boll. della Soc. di Naturalisti in Napoli. Vol. 12, 1898. Zitiert nach Meves (1898), S. 510.
37. Schottländer, G.: Über Kern- und Zellteilungsvorgänge in dem Endothel der entzündeten Hornhaut. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 31, 1888.
38. Strassen, O. L.: Über Riesenbildung bei Ascaris-Eiern. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. VII, 1898.
39. van der Stricht, N.: Étude de plusieurs anomalies intéressantes lors de la formation des globules polaires. Livre jubilaire dédié à Ch. van Bambecke. Bruxelles 1899. Zitiert nach Meves (1898), S. 511.
*40. Ströbe: Zieglers Beiträge, Bd. XI, 1891.
*41. Waldstein: Ein Fall von perniciöser Anämie. Virchows Arch., Bd. XCI, 1883.
42. Wilson, E. B.: Experimental studies in cytologie. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 12 und 13, 1901.
43. Ziegler, H. E.: Experimentelle Studien über die Zellteilung. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. VI und VII, 1898.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel XV.

Sämtliche Abbildungen wurden mit dem Abbeschen Zeichenapparat von Leitz in Höhe des Objekttisches entworfen.

Die 8 μ dicken Serien sind in Flemmingscher Flüssigkeit fixiert und mit Safranin-Lichtgrün gefärbt.

Abb. 9 wurde nach einem am 14. Mai 1903 fixierten Schnitt durch den normalen Hoden gezeichnet, den mir Herr Geh. Rat Nussbaum in dankenswerter Weise zur Verfügung stellte.

Fig. 1—7. Leitz hom. Imm. $^1/_{12}$, Ok. 4.

Fig. 1a und b. Zwei aufeinander folgende Schnitte durch eine vierpolige Mitose am Ende der Teilung. Einzelne kleine Chromosomen haben sich nicht an die Pole der Spindeln begeben. 5 Tage nach der Operation.

Fig. 2a—c. Achtpolige Mitose. Besonders in c sehr „in Unordnung geraten“. 5 Tage post op.

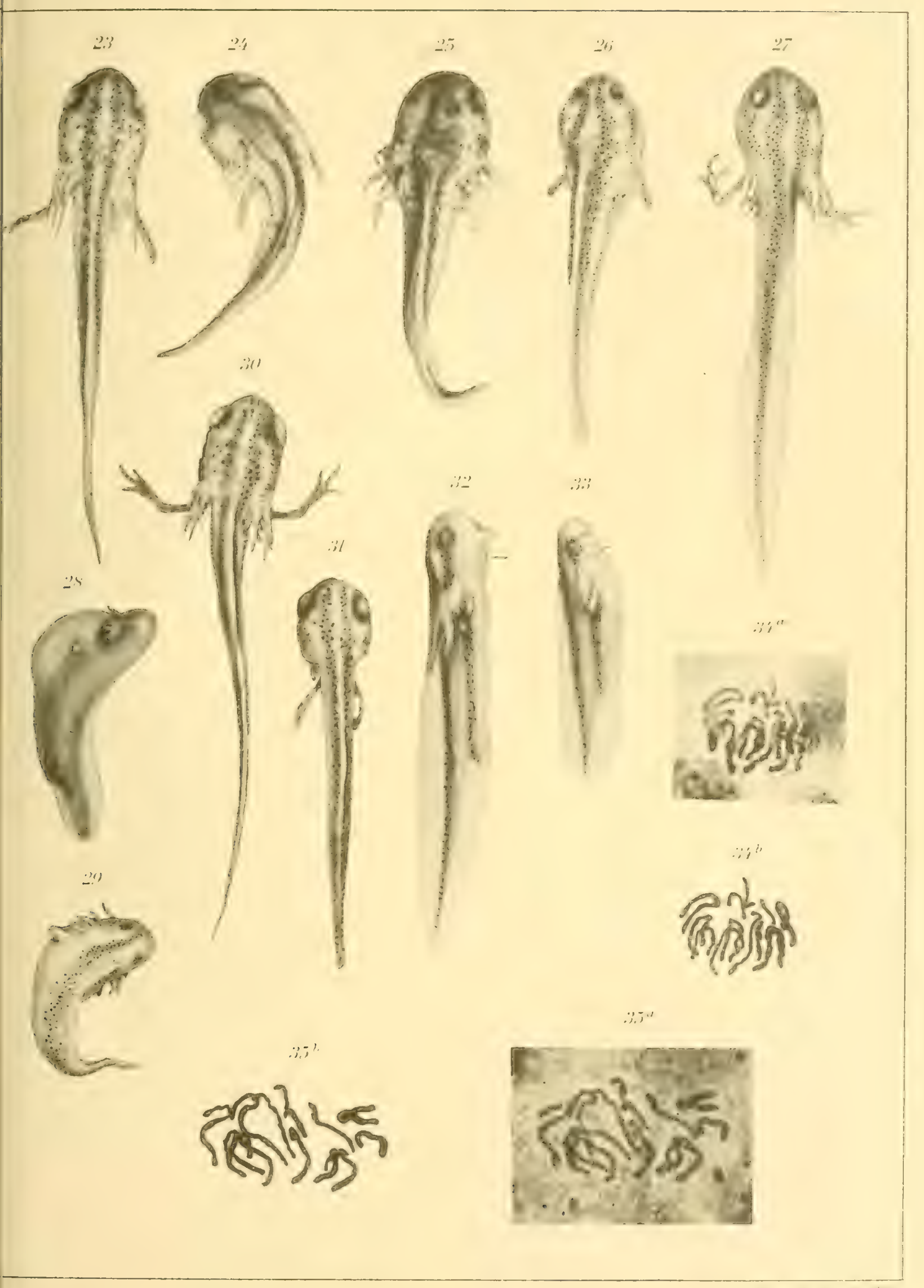
Fig. 3a—c. Achtpolige Mitose. 14 Tage nach der Operation. Nebst einer zweiten im Schnitt ungünstig getroffenen, die einzige pluripolare Mitose in der ganzen betr. Serie.

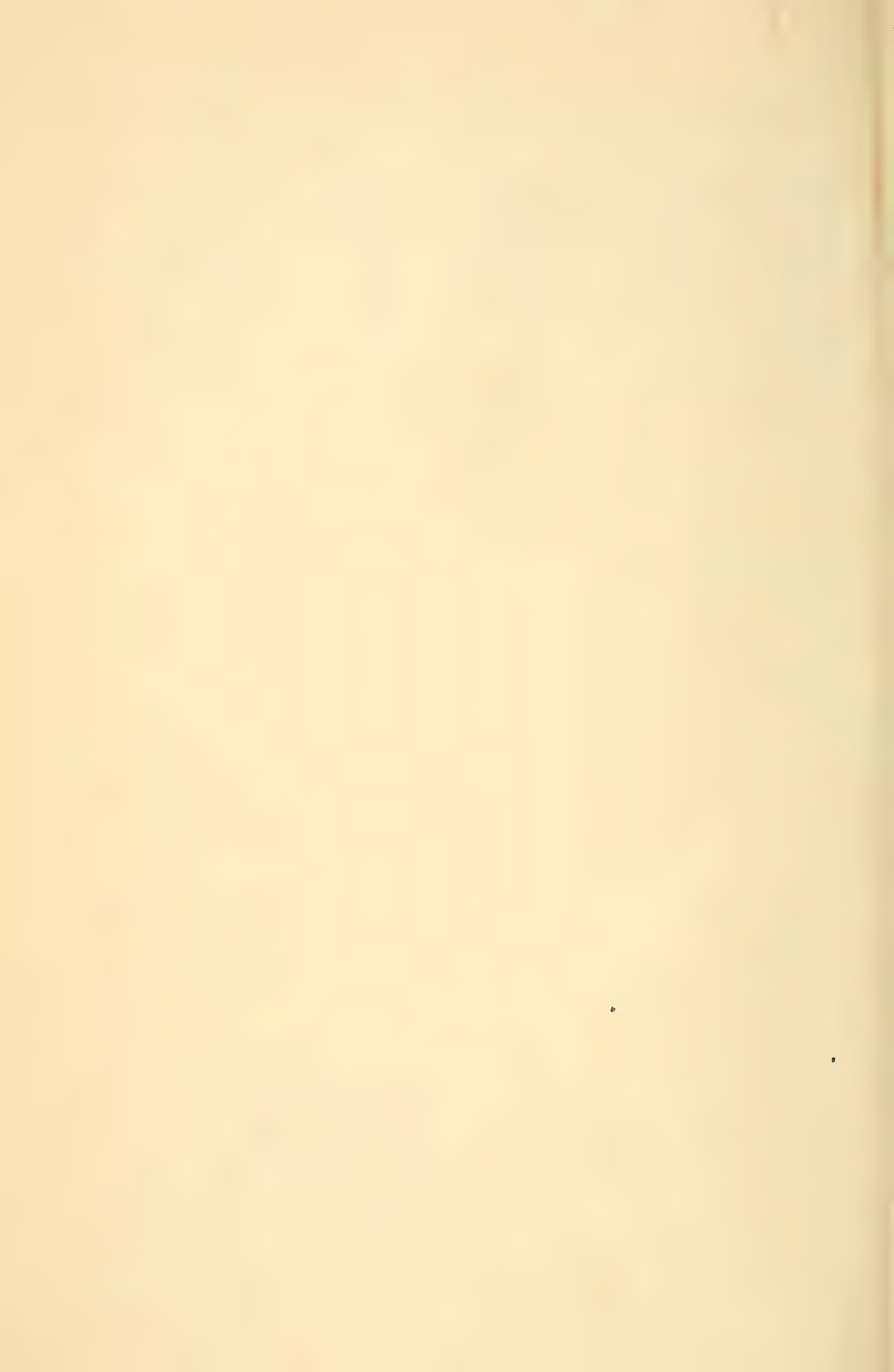
Fig. 4 a—c. Acht(?) polige Mitose. 5 Tage post op.
Fig. 5 a und b. Sechspolige Mitose. 5 Tage post op.
Fig. 6 a und b. Vierpolige Mitose am Ende der Teilung. Auch hier einzelne versprengte Chromosomen.
Fig. 7. Mittlerer Schnitt durch eine sechspolige Mitose. 5 Tage post op.
Fig. 8 und 9. Leitz hom. Imm. 1/12, Ok. 1.
Fig. 8. Teile dreier aneinander stossender Hodenkanälchen aus dem 5 Tage alten Regenerat. Man sieht das Lumen erfüllt von degenerierenden Spermien, die teils im Längsschnitt, teils im Querschnitt getroffen sind. Zwischen den noch relativ gut erhaltenen Köpfen die körnigen Zerfallsprodukte der Spermienschwänze. In der Mitte eine pluripolare Mitose. Darunter und rechts oben mehrkernige Zellen, die durch ähnliche Mitosen entstanden sind.
Fig. 9. Normaler Hoden von Rana fusca im Mai. Nur mehr geringe Detritusmassen im Lumen. Das ganze Gewebe ist viel lockerer. Die Kerne liegen weiter voneinander. Die Zellen in der Cyste links oberhalb der Mitose sind deutlich voneinander abgegrenzt. Die Kerne zeigen weder in der Grösse noch in der Struktur Unterschiede gegen diejenigen in Fig. 8.
Fig. 10 und 11. Leitz hom. Imm. 1/12, Ok. 4.
Fig. 10. Vierkernige (der vierte Kern liegt nicht mehr im Schnitt) Spermatogonie, wie sie aus der zweiten Teilung hervorgeht.
Fig. 11. Achtkernige Zelle. (Die drei anderen Kerne liegen im folgenden Schnitt.) Durch Teilung einer Zelle, wie in voriger Figur abgebildet, entstanden.






1
2
dr
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
15
16
17
18
19
20
21
22


23
24
25
26
27
30
32
33
31
28
29
35b
35a



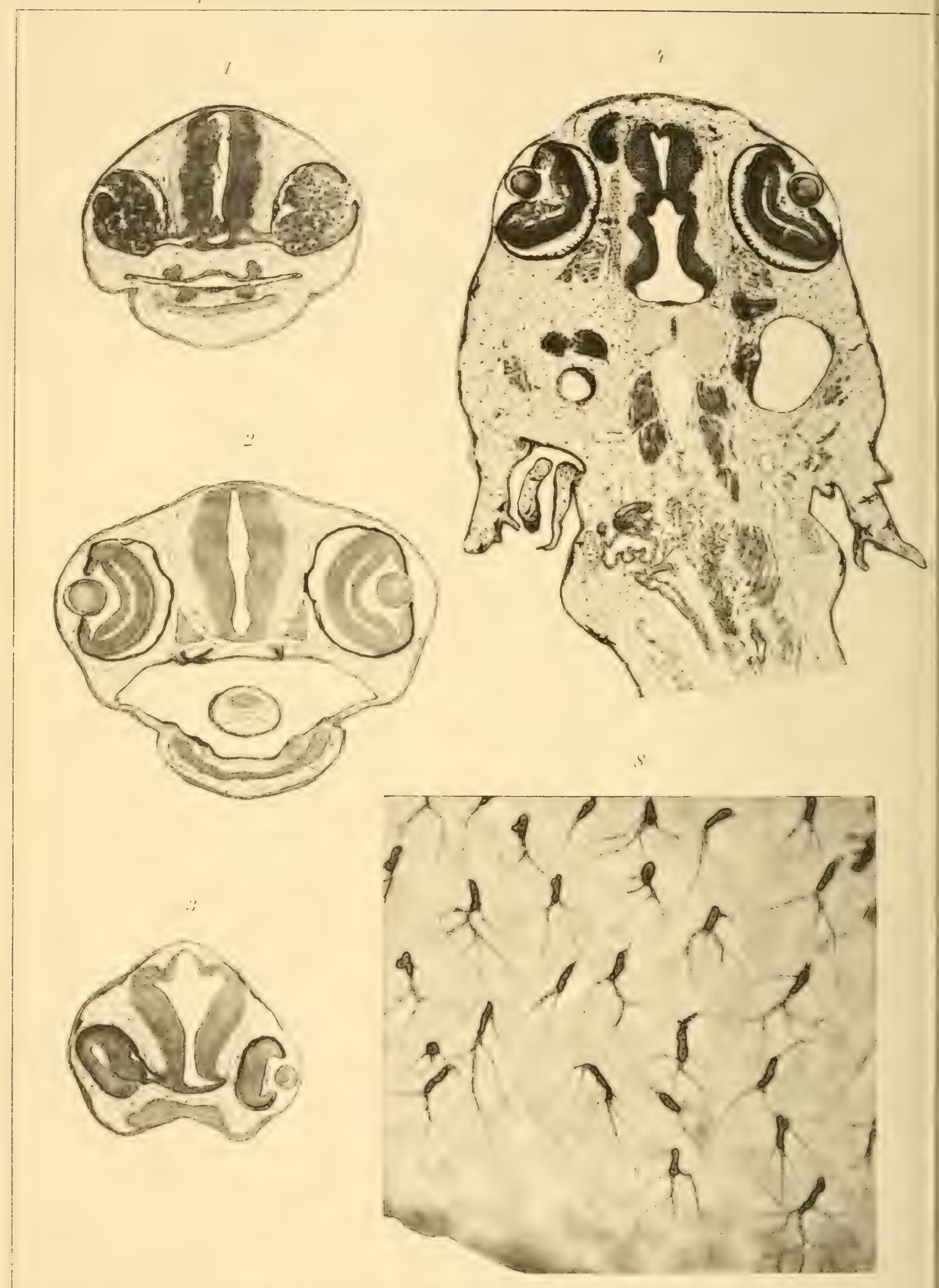


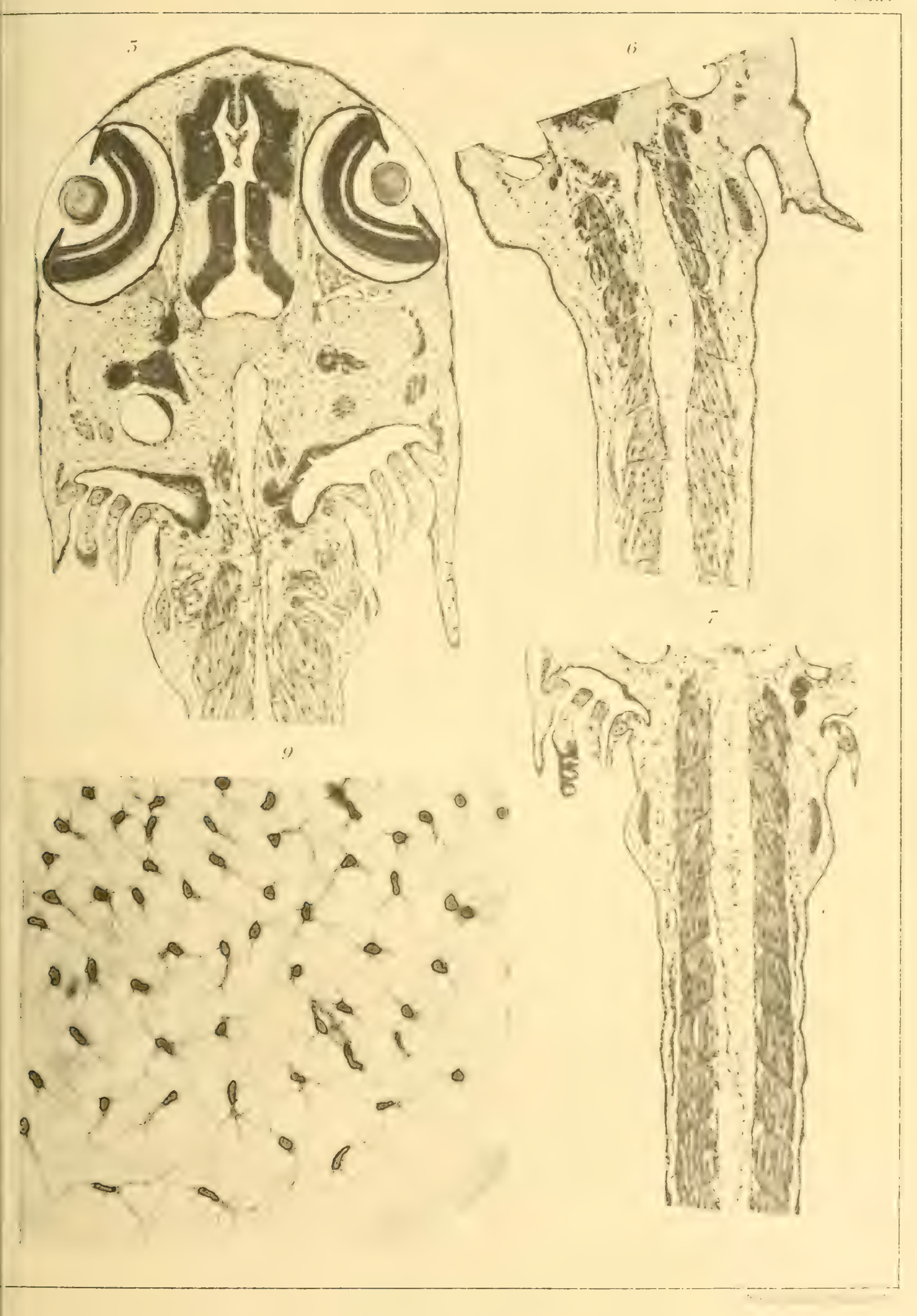



1
2
3
4
5
6
7
8
mk
mp
ch
mk
9
mk
mp ch
mk
10
11
12
x'
x²
d
d
z
z
13
14
z
z






1
2
3
4
5


5
6
7
9







3 (15:1)

m

r

ch

o

d

c

2 (150:1)

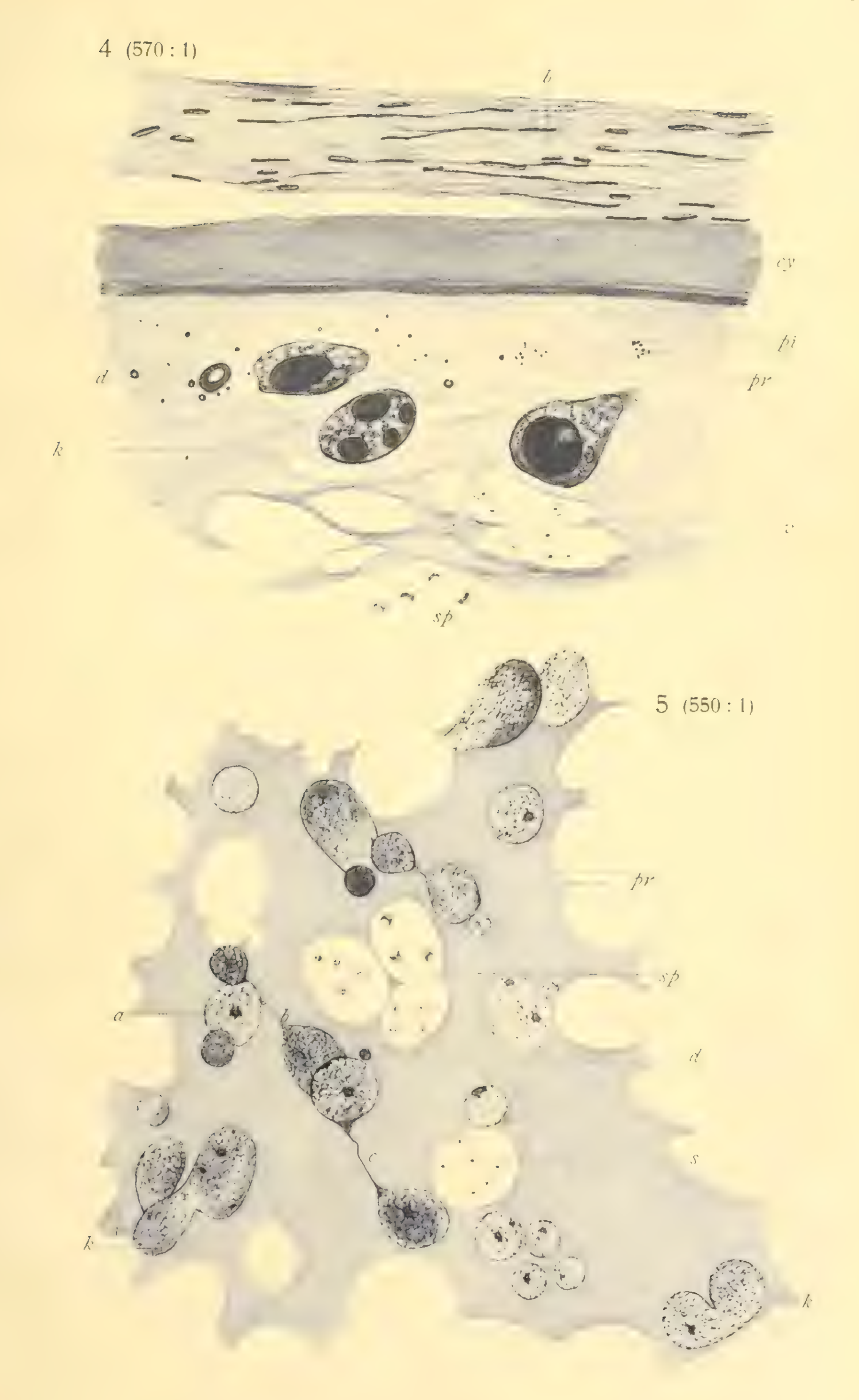
v

p

k

e

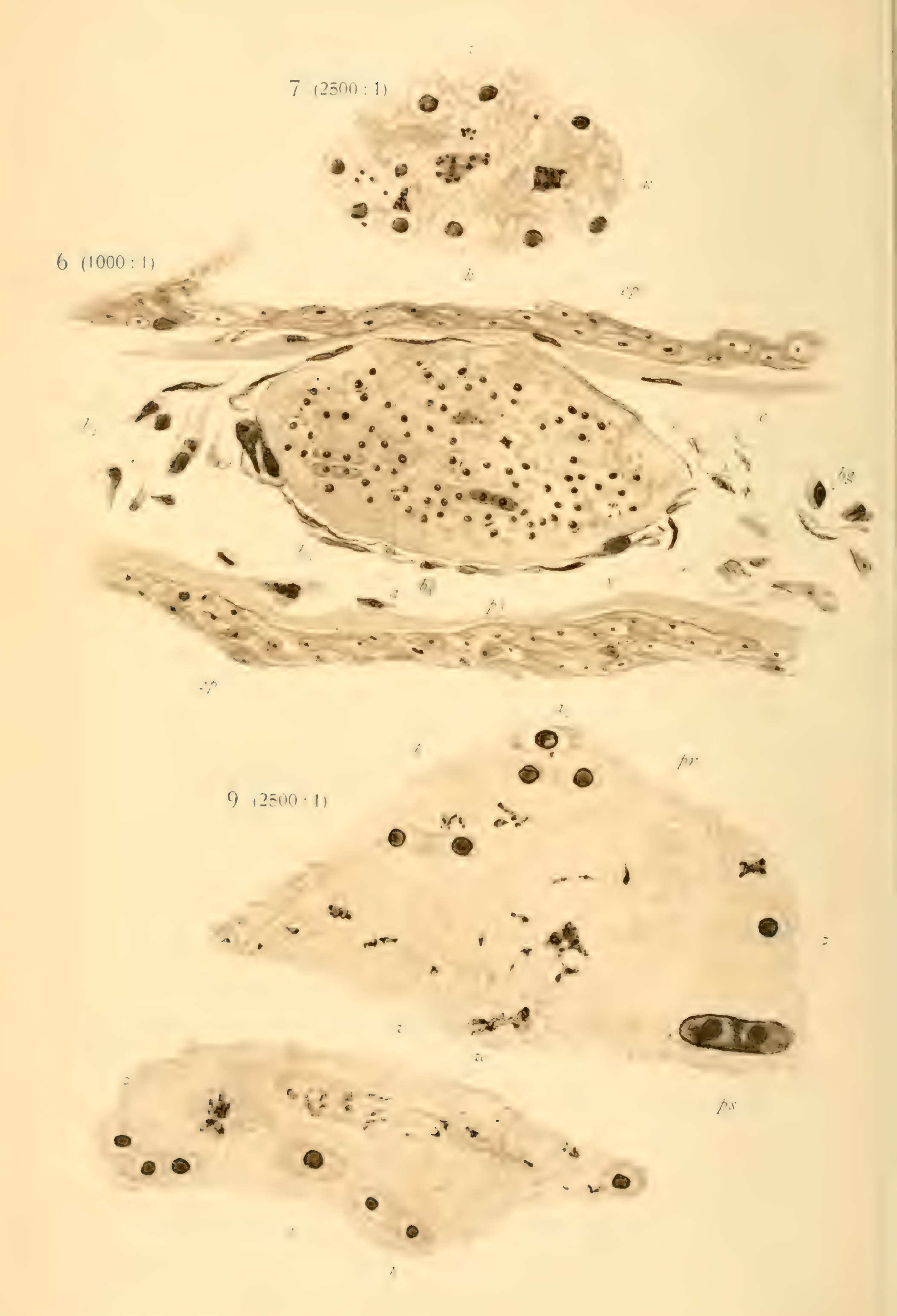
b



Doppelton-Lichtdruck von Herrm. Hadorff & Co., Berlin.







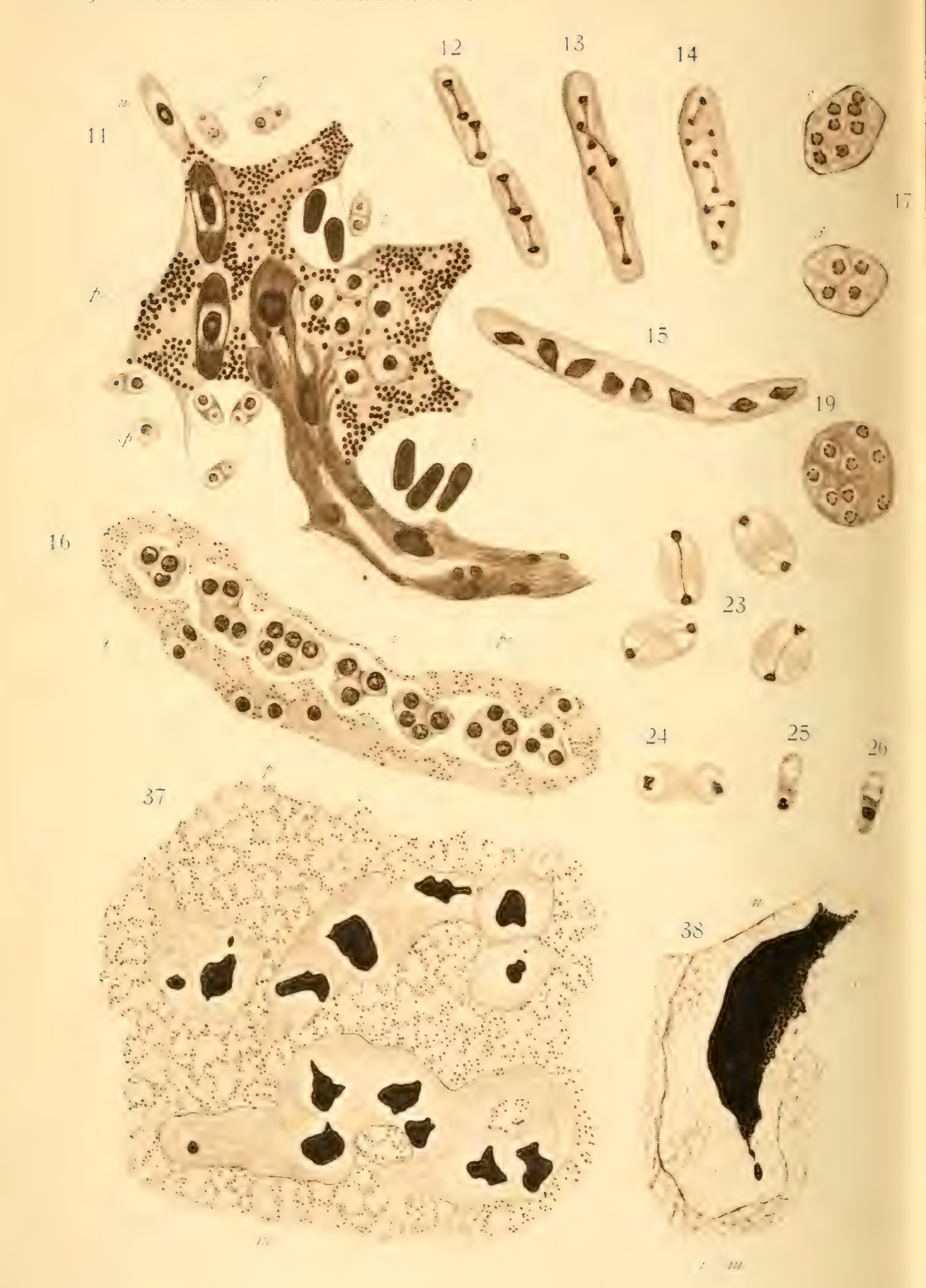
E. Schultz-Hencke u. Weissenberg gez.



Doppelton-Lichtdruck von Herrm. Hadorff & Co., Berlin.

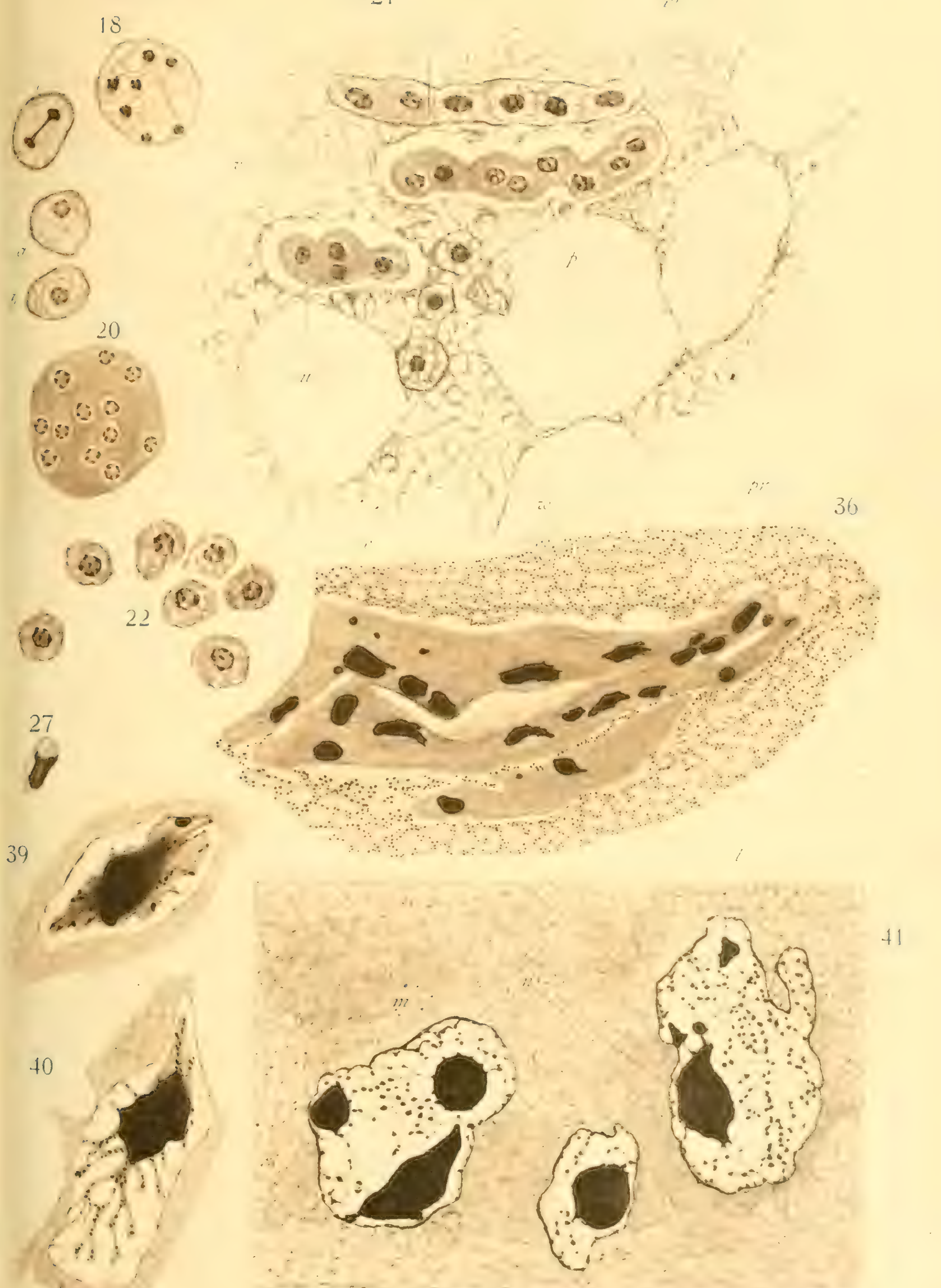






E. Schultz-Hencke u. Weissenberg gez.

Vergr.

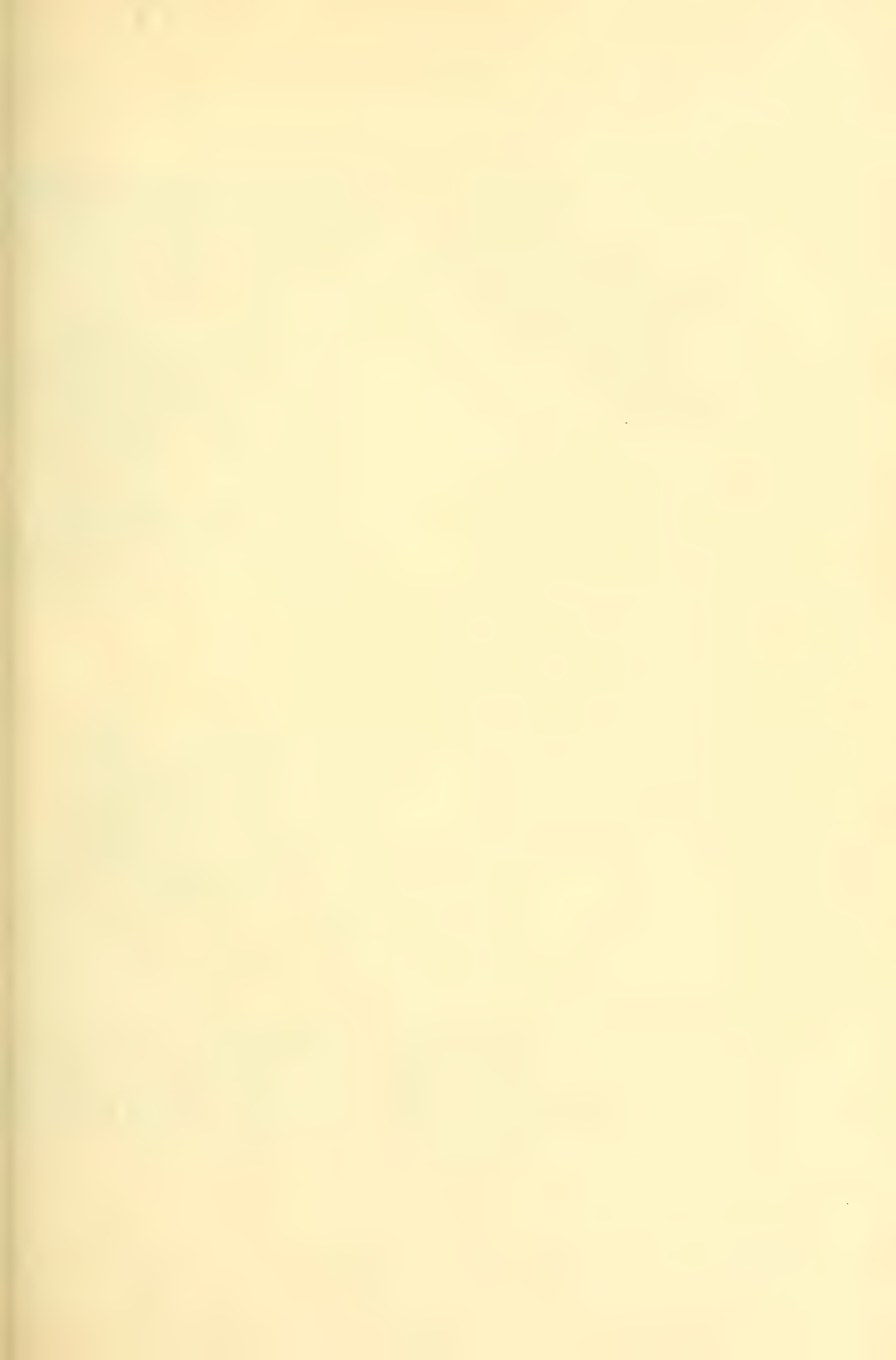

21
pr
18
20
22
27
36
39
40
41

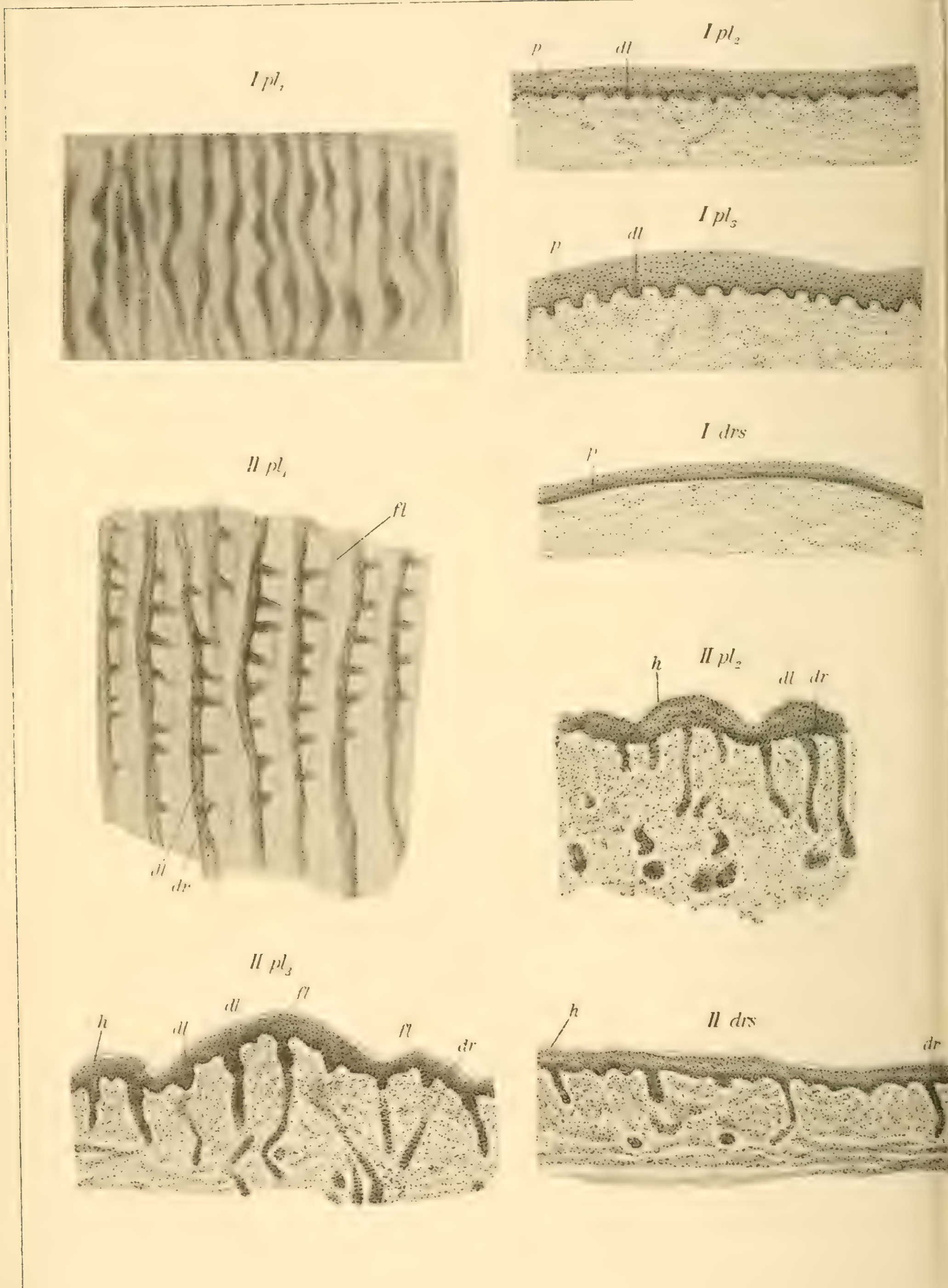


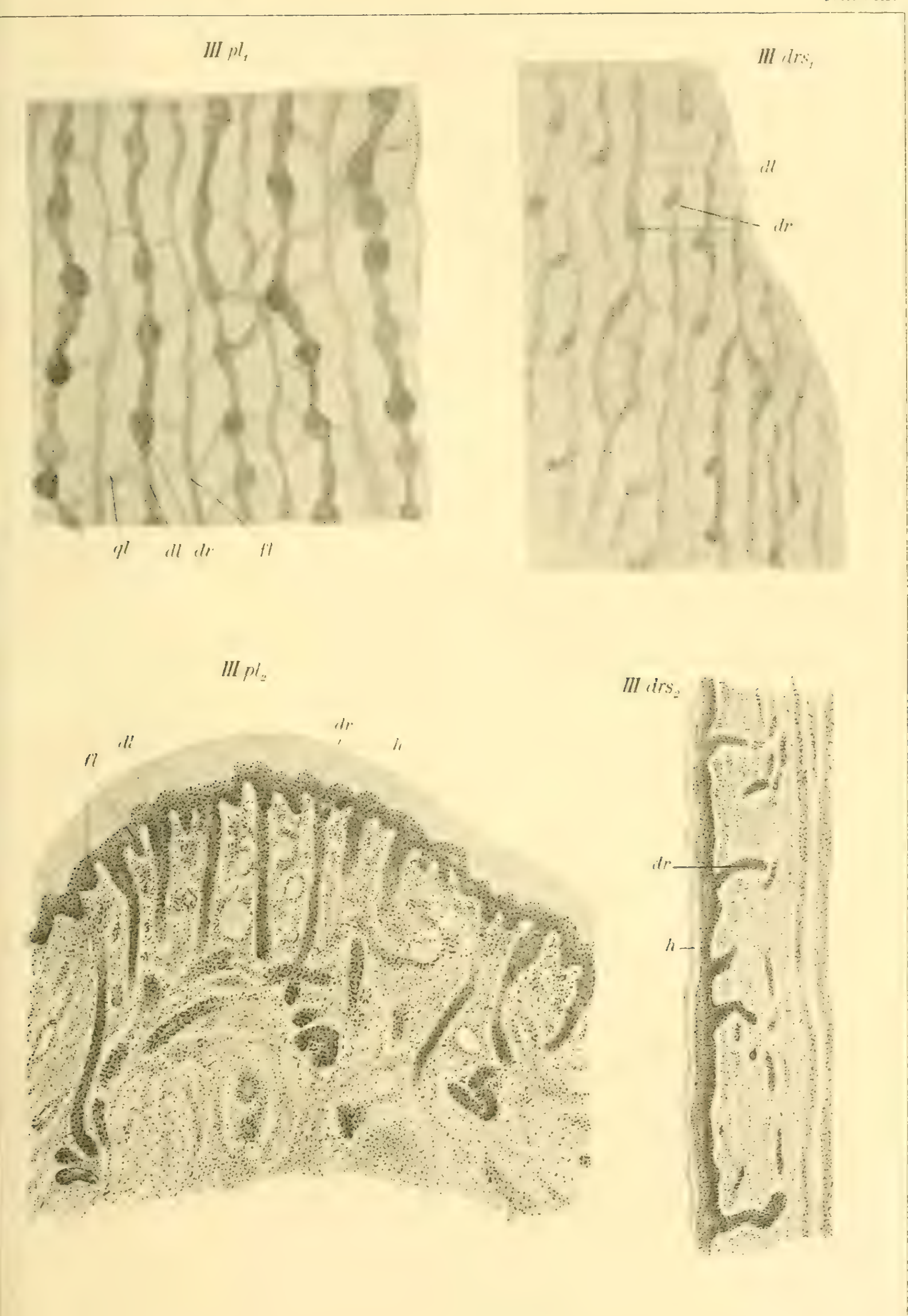


E. Schultz-Hencke und Weissenberg gez. Vergr. 2500 : 1

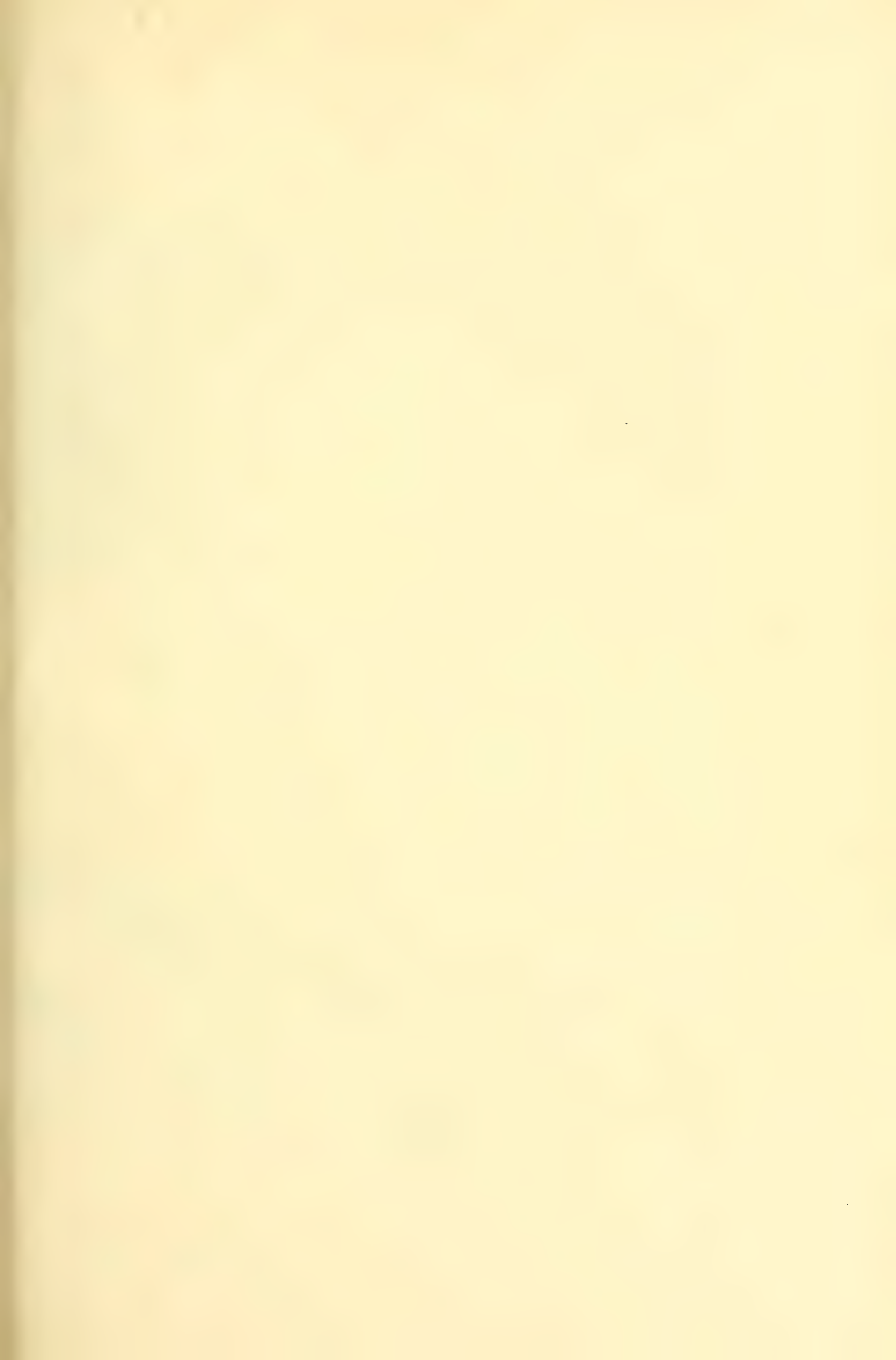


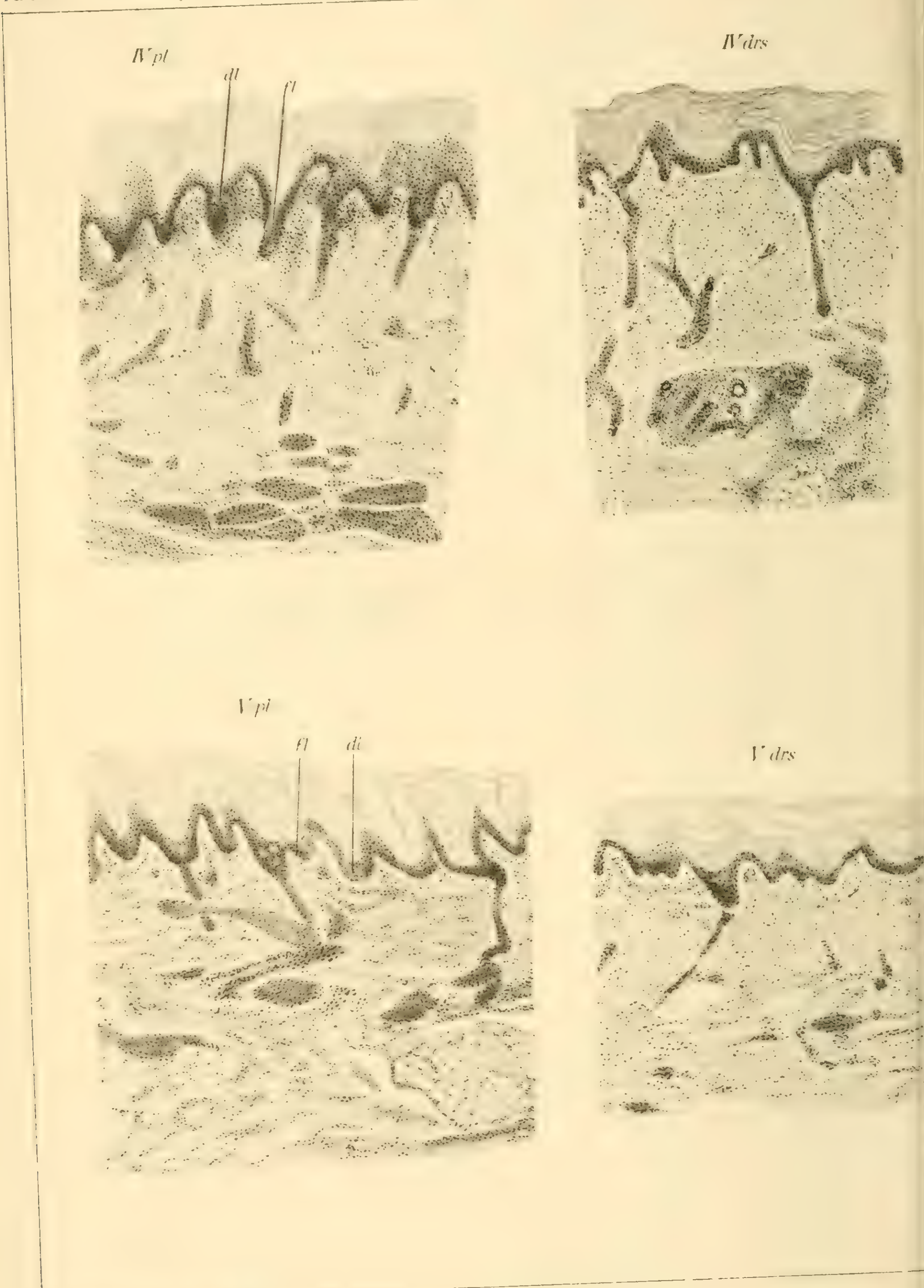



I pl1
I pl2
p
dl
I pl3
p
dl
I drs
p
II pl1
fl
dl
dr
II pl2
h
dl
dr
II pl3
h
dl
dl
fl
fl
dr
h
II drs
dr

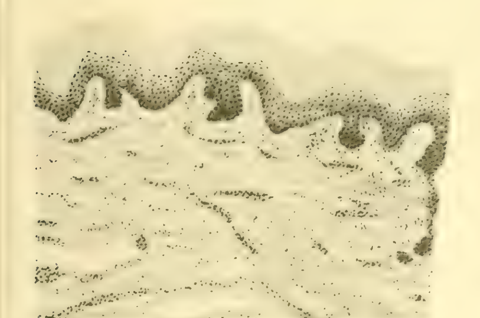

III pl₁
III drs₁
dl
dr
ql
dl
dr
fl
III pl₂
III drs₂
dr
dl
fl
h
dr
h



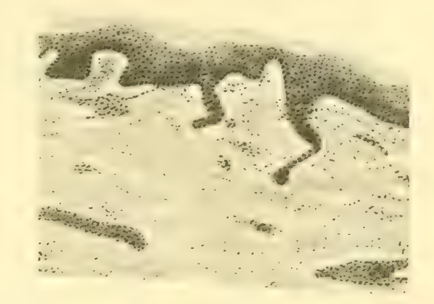



IV pl
dl
fl
IV drs
V pl
fl
di
V drs

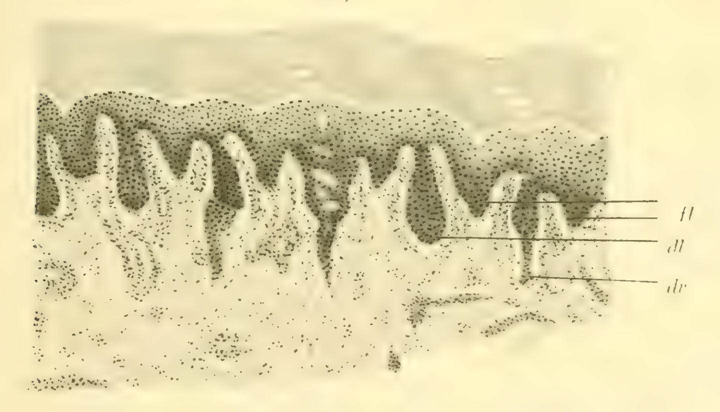
VI pl



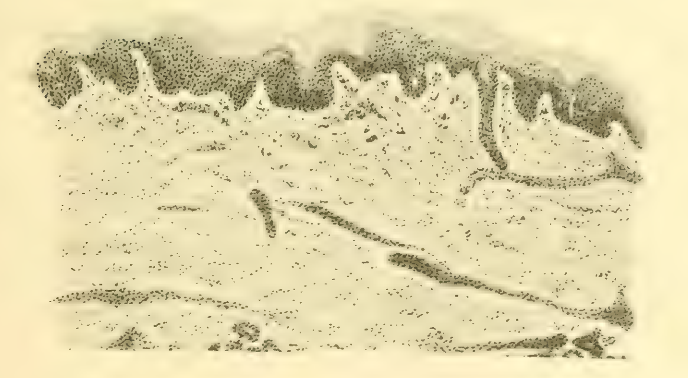
VI drs



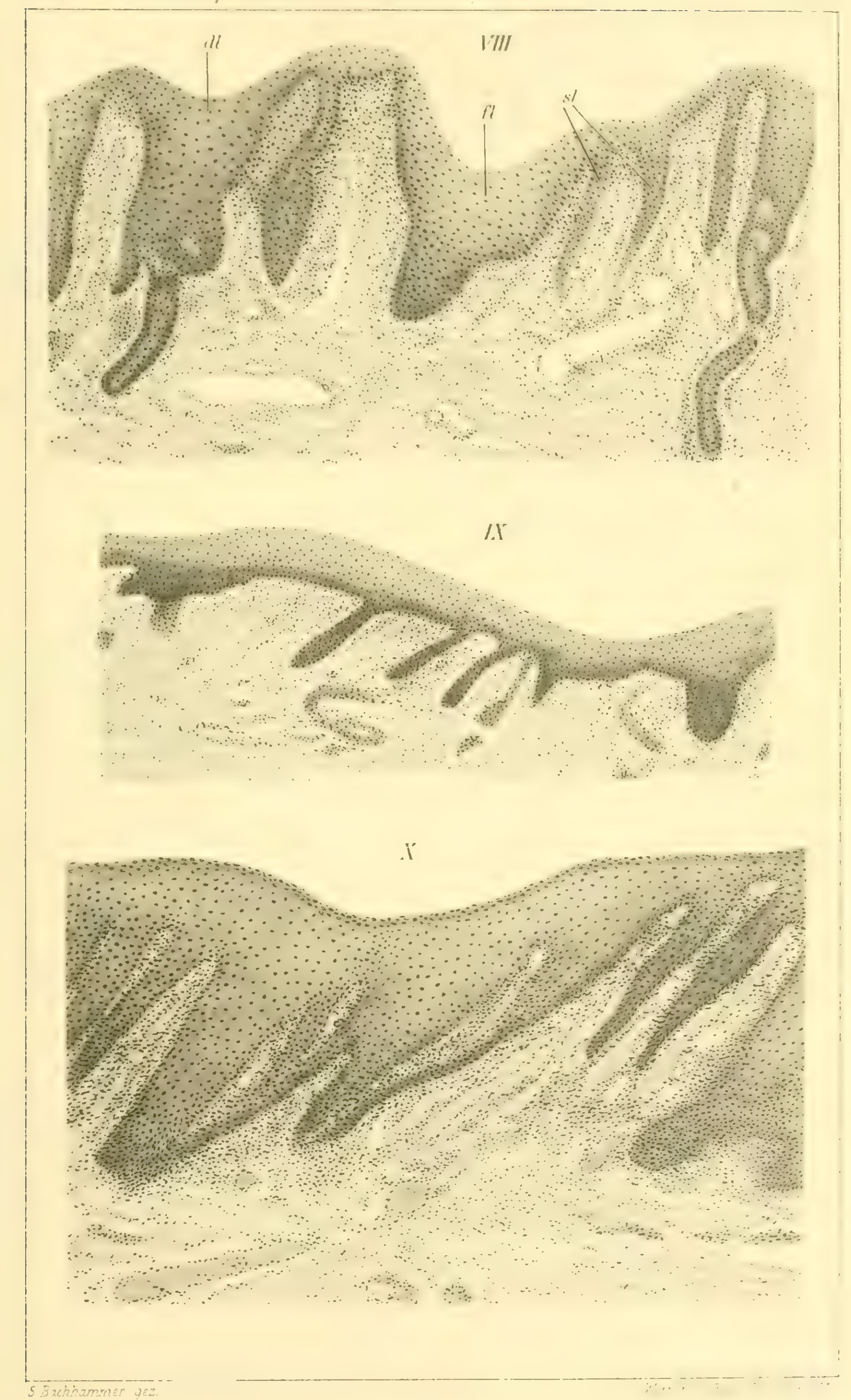
VII pl



VII drs



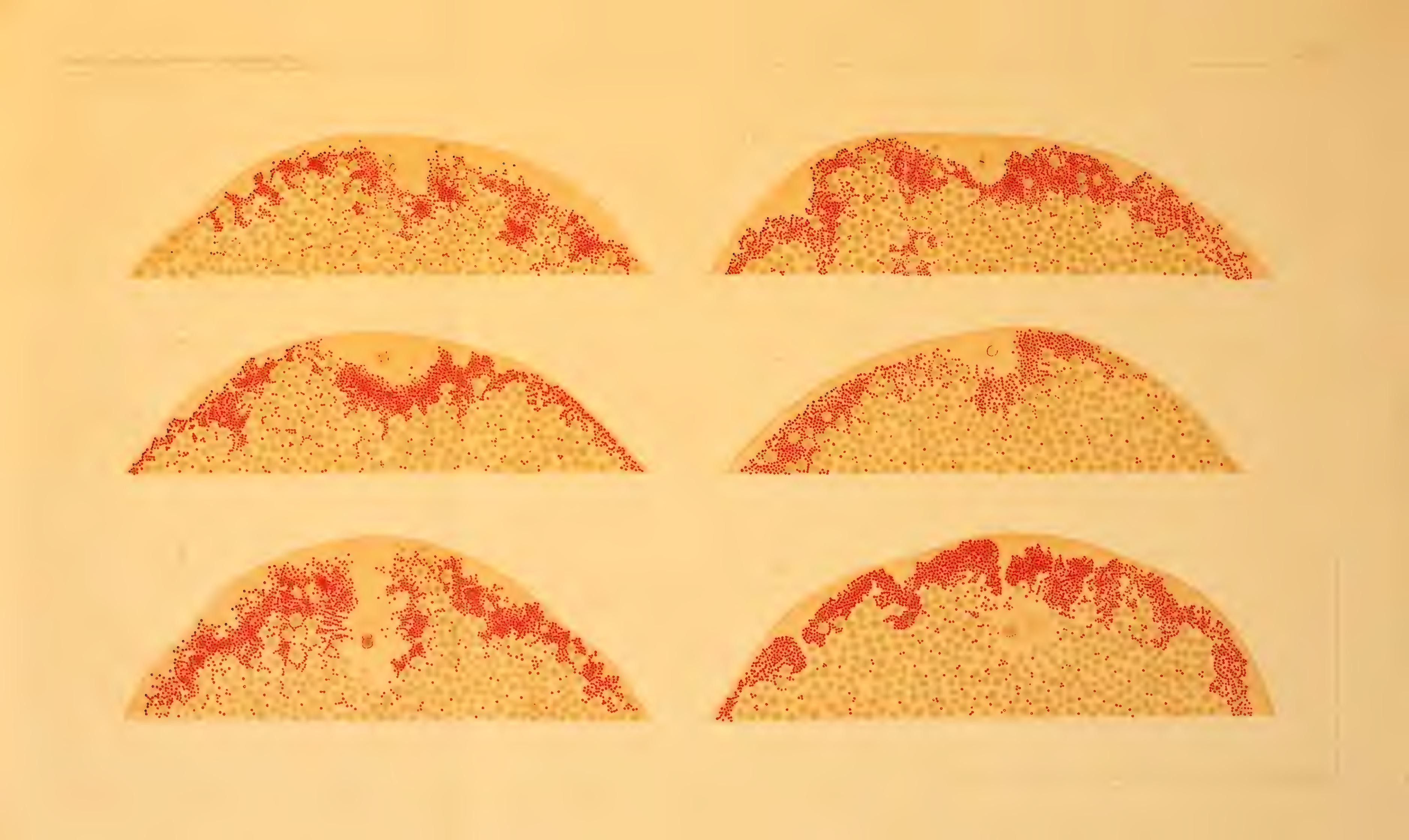




S. Buchhammer gez.



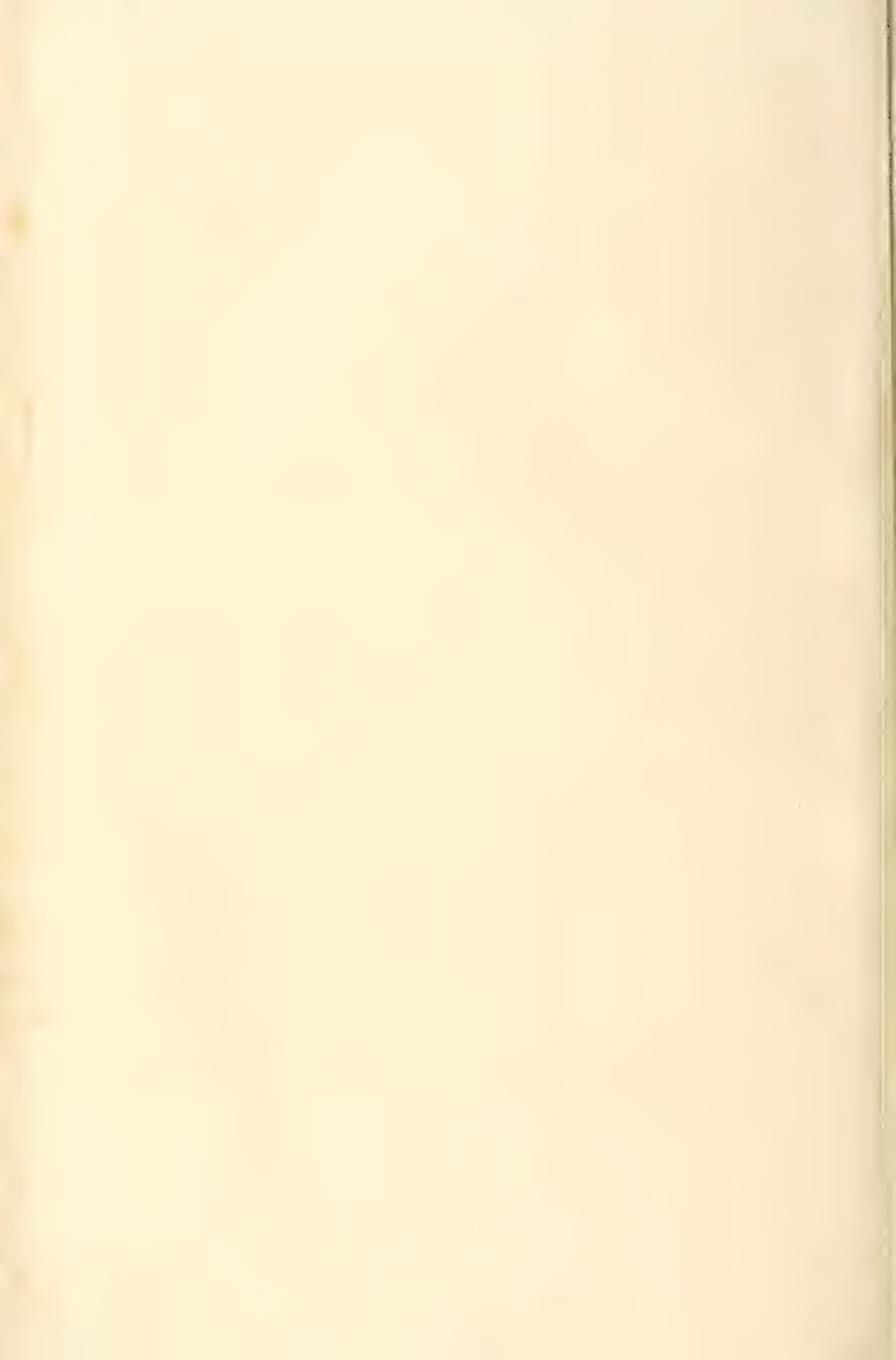




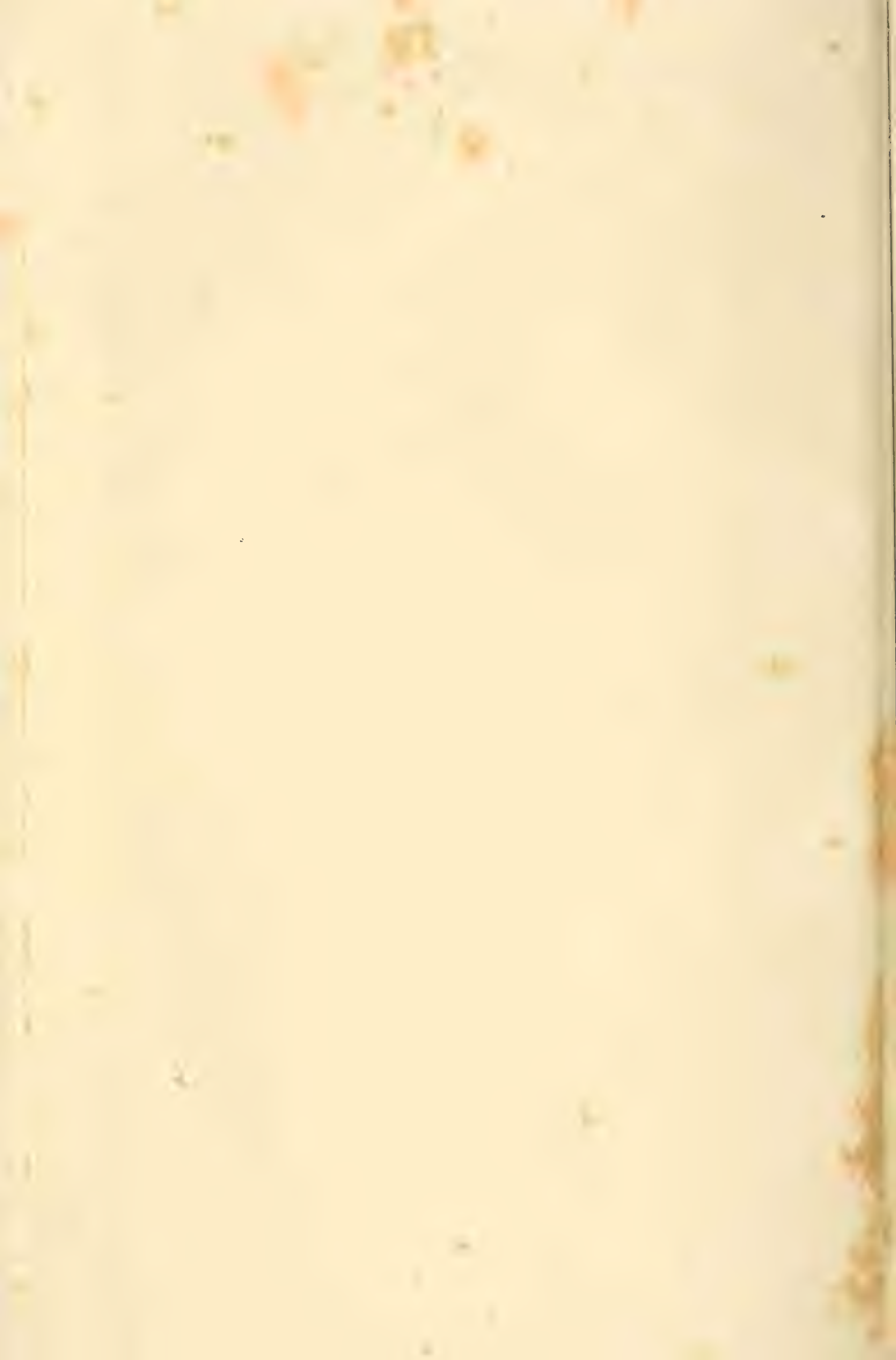




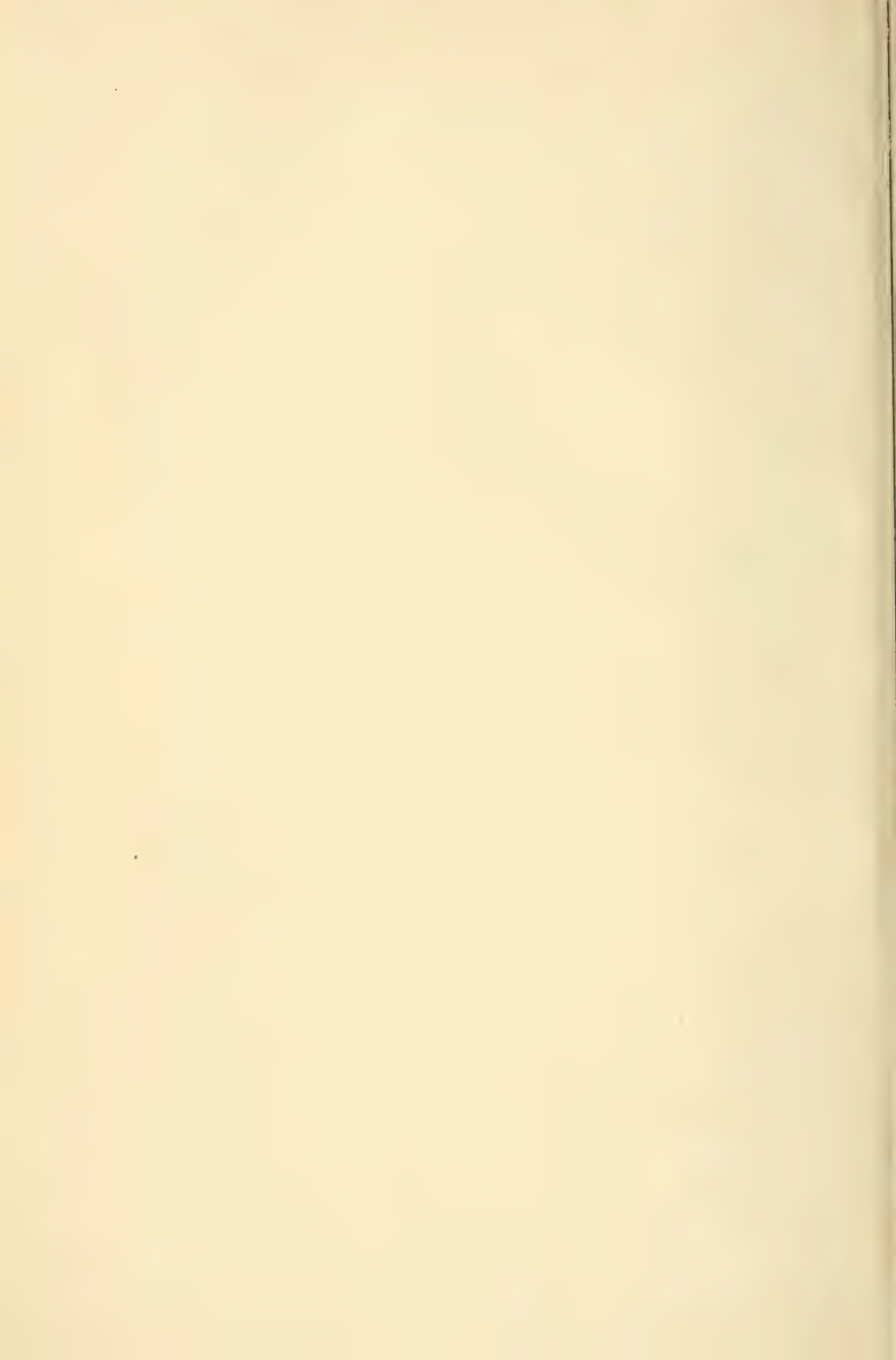


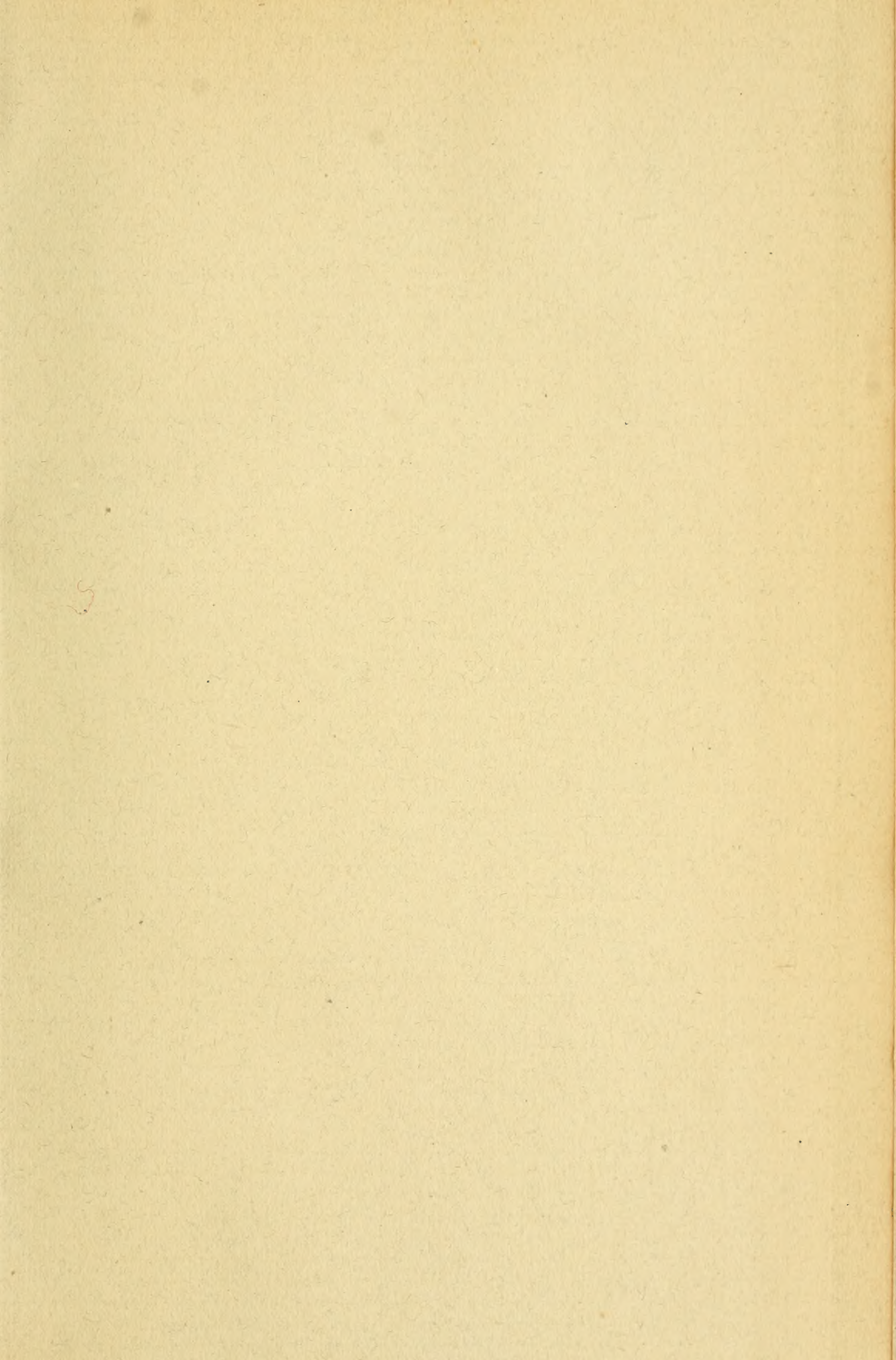


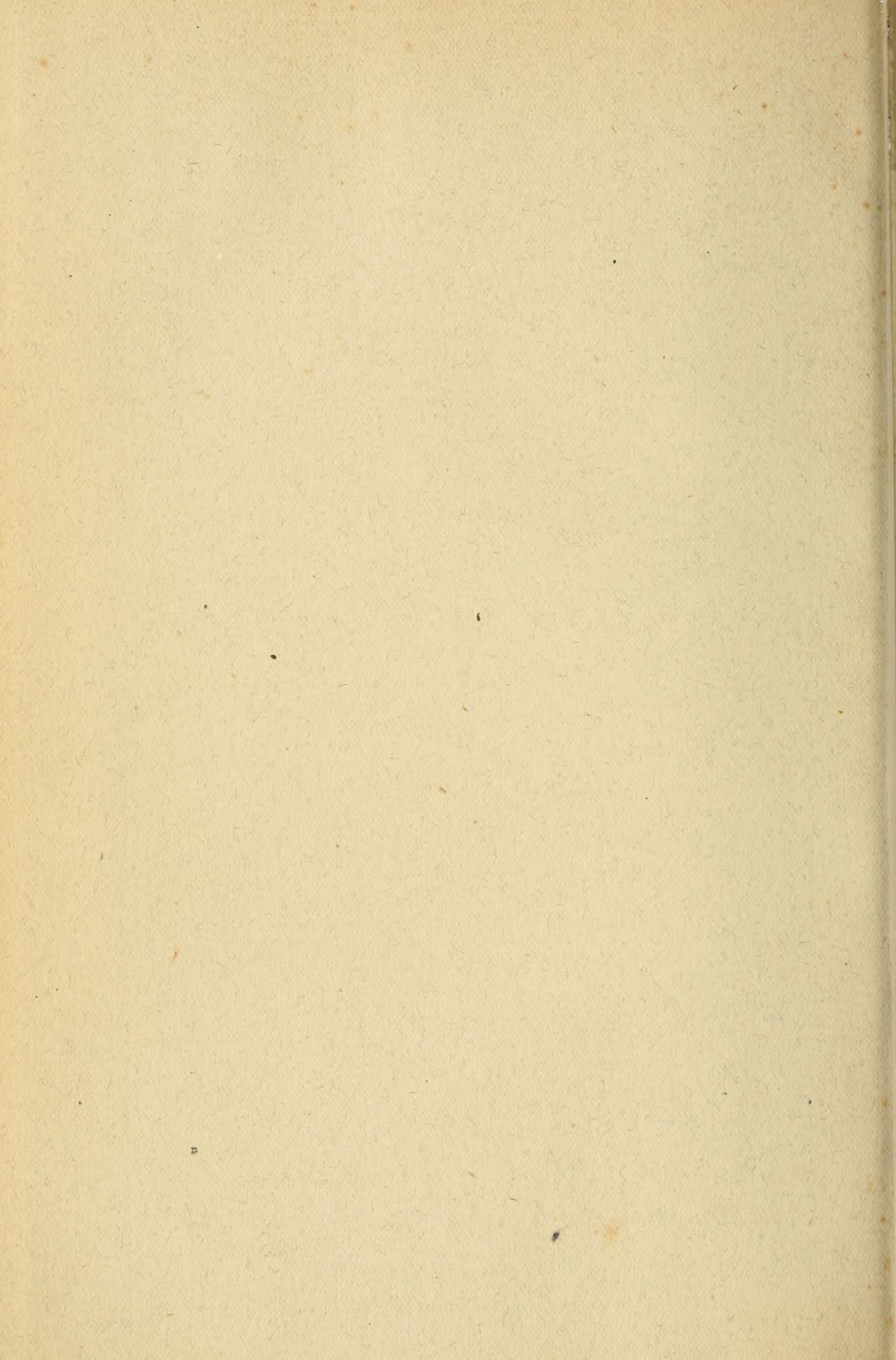

1a
1b
5a
8
5b
2a
2b
2c
6a
9
3a
3b
3c
6b
4a
4b
4c
7
10
11












MBL WHOI Library - Serials
5 WHSE 02652

